[AUS DEM STAATLICHEN HYGIENISCHEN INSTITUT ZU HAMBURG.]
(DIRECTOR: PROF. DR. DUNBAR.)

ZUM GEGENWÄRTIGEN STANDE DER CHOLERADIAGNOSE

UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DERJENIGEN VIBRIONEN, DEREN UNTERSCHEIDUNG VOM CHOLERAVIBRIO SCHWIERIGKEITEN BEREITET.

INAUGURAL-DISSERTATION,

WELCHE

NEBST BEIGEFÜGTEN THESEN

MIT GENEHMIGUNG

DER HOHEN MEDICINISCHEN FACULTÄT DER KÖNIGL. UNIVERSITÄT BRESLAU

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

IN DER

MEDICIN UND CHIRURGIE

AM 14. FEBRUAR 1903, VORMITTAGS 10½ UHR

IN DER AULA LEOPOLDINA DER UNIVERSITÄT

ÖFFENTLICH VERTHEIDIGEN WIRD

CARL PRAUSNITZ,
ASSISTENT AM HYGIENISCHEN INSTITUT ZU HAMBURG.

OPPONENTEN:

FRL. CLARA BENDER, CAND. MED. DR. PHIL. FRANZ PÜTTER, CAND. MED.

LEIPZIG,
VEIT & COMP.
1903.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät der Universität Breslau.
Referent: Herr Prof. Dr. Flügge, Dekan.

Diese Arbeit erscheint in der
„*Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten*“ 1903, Band XLIII.

Druck von Metzger & Wittig in Leipzig.

DEM ANDENKEN

MEINER ELTERN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548201_0063

I.

Die grosse Ausbreitung, welche die Cholera im Laufe des letzten Jahres in Aegypten gewonnen hat, und ihre Tendenz zum weiteren Fortschreiten erfüllen uns mit der Sorge, dass diese Seuche auch wieder nach Europa eingeführt werden könnte.

Pilgerzüge, welche sich in Mekka inficirt hatten, schleppten unter Umgehung der Quarantainestationen im Juli 1902 die Krankheit in Aegypten ein, wo sie sich rasch ausbreitete und in einem Vierteljahr über 30000 Opfer gefordert hat. Von Arabien aus dringt die Cholera unaufhaltsam nach Syrien und Palästina vor. Im Osten hat sie sich von China aus nach der russischen Mandschurei ausgebreitet und ist sie, längs den Flussläufen und der sibirischen Eisenbahn vorrückend, schon diesseits des Baikalsees angelangt. Zwar hat die Seuche europäischen Boden noch nicht erreicht, aber ein kürzlich festgestellter Cholerafall an Bord eines englischen Schiffes deutet auf die ständig über uns schwebende Gefahr einer plötzlichen Einschleppung aus den verseuchten Ländern hin.

Nach den traurigen Erfahrungen bei früheren Epidemieen liegt die Nothwendigkeit vor, dass alle mit der Fürsorge für das öffentliche Wohl betrauten Behörden rechtzeitig die zur Verhinderung einer Ausbreitung der Seuche erforderlichen Maassregeln erwägen. Eins der wichtigsten

Momente bei den in Frage kommenden Maassregeln bildet die frühzeitige Auffindung und sichere Erkennung des Infectionserregers.

Derselbe ist, wie die Arbeiten von R. Koch (83) sicher bewiesen haben, ein hinlänglich charakterisirter[1] Vibrio, der, im menschlichen Darm wuchernd, von dort aus die bekannten klinischen Erscheinungen hervorruft. Die Verbreitung der Cholera durch Uebertragung von Mensch auf Mensch scheint in allen Epidemieen eine nur geringe Rolle zu spielen. Von grösserer Bedeutung ist die Uebertragung der Choleravibrionen durch die Nahrungsmittel. In Milch, auf Gemüse, Obst u. s. w. halten sie sich längere Zeit, wie A. Friedrich (55) und Andere gezeigt haben.

Die Hauptrolle bei der Ausbreitung der Cholera spielt aber ohne Zweifel das Wasser. Es liegen Beobachtungen vor, dass sich die Choleravibrionen lange im Flusswasser halten, ja dass sie sich während eines ganzen Jahres, auch bei zuweilen niedriger Temperatur weiter entwickeln können. (36, 39.)

Es erscheinen demnach diejenigen Städte und Ortschaften, die ihren Wasserbedarf dem Oberflächenwasser entnehmen, im Falle einer Einschleppung der Seuche am schwersten bedroht. Daher ist zur Zeit einer solchen Gefahr von grösster Wichtigkeit neben der raschen und sicheren Feststellung der Choleravibrionen im Darminhalt der erkrankten Personen eine möglichst frühzeitige Auffindung der Vibrionen im Wasser. Für alle mit der Ueberwachung centraler Oberflächenwasser-Versorgungsanlagen betrauten Sachverständigen und Behörden ergiebt sich hieraus die Pflicht einer ständigen sorgfältigen Untersuchung des Roh- und Leitungswassers auf Choleravibrionen. Es muss den späteren Ausführungen vorbehalten werden, zu zeigen, wie dieser keineswegs leichte Nachweis am zweckmässigsten geführt wird.

Wir wollen zunächst in aller Kürze über die bisherigen Befunde von Vibrionen in öffentlichen Gewässern berichten.

Kurz nach der Entdeckung des Choleravibrio im Darminhalt von Cholerakranken und -Leichen gelang R. Koch (83) (1884) wiederholt der Nachweis desselben Vibrio in dem stark mit Fäkalien verunreinigten Tank

---

[1] Es hatten sich freilich bei den Nachprüfungen der Koch'schen Arbeiten aus Cholerastühlen eine Reihe von Vibrionen isoliren lassen, die in mancher Beziehung vom Koch'schen Typus abwichen. In Folge dessen hatten einige Forscher, vor Allem Cunningham (30), die Einheitlichkeit der Choleraerreger in Zweifel gezogen. Dagegen wurde durch die sorgfältigen Untersuchungen von Hüppe und P. Friedrich (56) der Beweis geführt, dass auch der typische Koch'sche Vibrio in seinem morphologischen Verhalten gewissen Schwankungen unterworfen ist, dass aber sein Gesammtbild innerhalb dieser Grenzen der Veränderungsfähigkeit typisch ist, und dass auch die Cunningham'schen Vibrionen in dies Gesammtbild hinein gehören.

Tabelle I.

Nr.	Name des Entdeckers	Zeit	Herkunft des Vibrio	Seine Charakteristica	Bemerkungen
1	Günther (66)	1892	Rohwasser, Stralau	Schwaches Wachsthum auf Bouillon, nicht pathogen, keine Rothreaction, sehr rasche Verflüssigung d. Gelatine	Vibrio aquatilis
2	Russel (150)	1892	Seewasser u. Schlamm, Golf v. Neapel	Saprophyt. Kein Wachsthum bei 37°	Spirillum marine
3	Fokker (49)	1893	Groninger Hafen	In Bouillon bei 37° kein, bei 23° gutes Wachsthum. Rasche Verflüssigung u. atyp. Wachsthum auf Gelatine-Rothreaction? Nicht pathogen.	
4	Bonhoff (13)	1893	Probe aus Stolp i. P.	Atyp. Wachsthum in Bouillon u. auf Gelatine; keine Rothreact. Pathogen	
5	Weibel (161)	1893	München, Brunnen, früher m. Cholera inf.	Sehr wechselnde Verhältnisse der Verflüssigung. Atypisches Wachsthum auf Gelatine	
6	Bujwid (22)	1893	Weichsel	Atypisches Wachsthum auf Gelatine Keine Rothreaction	
7	Löffler (98)	1893	Peenewasser	Vibr., ähnlich dem V. Finkler-Prior	
8	Kiessling (82)	1893	Schlammw. der Altonaer Schlammwäsche	Auf Gelatine rasche Verflüssigung, manchmal recht choleraähnlich, bald Vibrionen-, bald Stäbchenform Keine Rothreaction	
9	Neisser (114)	1893	Berliner Leitungswasser mit Choleravibr. inficirt	Auf Gelatineplatten feinkörnig, in der Durchsicht heller; Rand der Colonieen ganz glatt und kreisrund, ähnlich einem Fetttropfen. Typische Rothreaction. Wachsthum in Peptonlösung. Mässige Pathogenität	Vibrio Berolinensis
10	Heider (70)	1893	Donauwasser	Gelatineplatte: nach 20—30 Stdn. sehr ähnlich Cholera. Nach Beginn d. Verflüssig. mehr dem V. Metschnikoff ähnlich, aber langsamer verflüssigend. Typische Rothreaction. Geringere Pathogenität als Cholera. Für Tauben unschädlich	Vibrio danubicus
11	Pestana & Bettencourt (124)	1894	Lissabon-Hafen	Weniger bewegl. Atyp. Wachsthum auf Gelatineplatte. Auf Peptonlsg. kein Häutchen. Keine Rothreaction	
12	Pfuhl (139)	1894	Nordhafen, Berlin	Typus des Vibrio Metchnikoff	Vibrio Nordhafen
13	Abbott (1)	1896	Schuylkill Riv.,	110 Stämme, Spielarten eines Stammes,	
14	Abbott & Bergey (1a)	1897	Delaware-Riv., Philadelphia	ähnlich dem Vibrio Metchnikoff	
15	Nicolle (119)	1896	Hafenw. u. a. Wasserproben, Konstantinopel	Vibrionen vom Typus Finkler-Prior, Denecke u. langsamer verflüssigende. Theils mit, theils ohne Rothreaktion	
16	van't Hoff (72)	1898	Rohwasser, Rotterdamer Wasserwerk	Sehr rasch d. Gelatine verflüssigend, schlechtes Wachsthum in Peptonlsg., typische Rothreaction. Pathogenität	Spirillum Maaseï
17	Kohlbrügge (88)	1900	Rheinarm bei Utrecht	Meistens atypisches Wachsthum auf Gelatine. Einige zeigen Rothreaction u. sind pathogen. Einige proteusartige	

Tabelle II. **Mittheilungen über Befunde von Choleravibrionen im Wasser.**

Nr.	Isolirt durch	Fundort	Datum der Isolirung	Nachprüfungen
1	R. Koch (83)	Tank v. Saheb Bagan bei Calkutta	1884	
2	Cunningham (29)	Mehrere Indische Tanks, besonders an der Oberfläche der Euglaenae	1885	
3	Nicati u. Rietsch (117)	Marseille, Hafenwasser (während der Epidemie)	1885	
4	Pasquale (123)	Ghinda bei Massauah, Schöpfbrunnen	1891	
5	Lubarsch (100)	Bilgewasser eines Elbschleppdampfers, auf dem Cholerafälle vorgekommen waren	11. IX. 1892	
6	Biernacki (10)	Lublin, Brunnen eines Cholerahauses	23. IX. 1892	
7	C. Fraenkel (51)	Duisburg, Zollhafen (kurz nach Ankunft eines Cholera-inficirten Schiffes)	27. IX. 1892	
8	R. Koch (85)	Elbwasser, unterhalb der Hamburger Sielmündung		
9	„	Absitzbehälter des Altonaer Filterwerkes	Herbst 1892	
10	„	Brunnen in Altona		
11	„	Nietleben: Rieselfelder, Filterbassins, Wasserleitung	Winter 92/93.	Vibrio aus Leitung: Pfeiffer'scher Versuch + [Pfeiffer und Issaeff (129) 1894]
12	„	Nietleben: Saale, dicht unterhalb von Nietleben		
13	Kübler (26a)	Brunnen, Langer Jammer, Altona	Winter 1892	
14	Mendoza (107)	9 Wasserproben aus spanischen Flüssen	1893	
15	Spronck (156)	5 Wasserproben öffentlicher Gewässer Hollands	1893	
16	Sanarelli (152)	32 Proben öffentlicher Wasserläufe in und bei Paris	1893	Choleraähnl. Vibrio Point du jour: Pfeiffer'scher Versuch — [Pfeiffer (131) 1895]

19	Frosch (26a)	Brunnen bei Solingen	Septbr. 1893	
20	Dunbar	Ruhr bei Ruhrort (2 Stämme)	3. IX. 93.	Beide Vibrionen: Pfeiffer'scher Versuch und Agglutination + (Dunbar 1896), der eine jetzt vorhandene (Vibrio 272): Agglutination wahrscheinlich +
21	„	Hamburg, Haus Colonaden 43 III, Wasserkasten	26. IX. 93.	Pfeiffer'scher Versuch und Agglutination + (Dunbar 1896), jetzt nicht vorhanden
22	„	Moorwerder, nahe Hamburg	20. X. 93.	Agglutination jetzt + (Vibrio 318)
23	„	Hamburg, Schnellfilter	30. X. 93.	Pfeiffer'scher Versuch und Agglutination + (Dunbar 1896). Jetzt Agglutination + (Vibrio 331)
24	„	Hamburg, Leitung	31. X. 93.	Pfeiffer'scher Versuch u. Agglutination + (Dunbar 1896), jetzt nicht vorhanden
25	„	Oder bei Stettin (5 Stämme)	22. X. 93.	Pfeiffer'scher Versuch u. Agglutination + (Dunbar 1896). Jetzt: vier noch vorhandene: Agglutination + (Vibr. 319, 321, 322, 323)
26	Institut f. Infectionskrankheiten (26a)	Dunzig und Oder bei Bredow	29./30. IX. 93.	
27	„	Stettin, Rohwasser, Filter C	Octbr. 1893	Pfeiffer'scher Versuch + [Pfeiffer und Issaeff (129) 1894]
28	„	„ „ „ D	Octbr. 1893	„ „ „ „ „ „
29	„	Havel bei Havelberg, nahe einigen inficirten Häusern	22. X. 93.	„ „ [Pfeiffer (131) 1895]
30	„	Havel bei Potsdam	31. X. 93.	„ „ [Pfeiffer und Issaeff (129) 1894]
31	„	Spree, Berlin, Friedrichsbrücke	27. X. 93.	„ „ „ „ „ „
32	„	Graben, Gr. Stepenitz, Stettiner Haff	Octbr. 1893	
33	„	Wollin: Kesselbrunnen und Dievenow am Bollwerk	Novbr. 1893	
34	„	Mescherin	Novbr. 1893	

Tabelle II (Fortsetzung).

Nr.	Isolirt durch	Fundort	Datum der Isolirung	Nachprüfungen
35	Institut f. Infectionskrankheiten (26a)	Lübzin bei Stettin (Kesselbrunnen). Auf diesem Gehöft ein eingeschleppter Cholerafall	1893	Pfeiffer'scher Versuch + [Pfeiffer (131) 1895]
36	„	Gollnow, Mühlbach	8. X. 93.	„ „ [Pfeiffer u. Issaeff (129) 1894]
37	„	Gollnow, Ihna	Novbr. 1893	
38	v. Esmarch (26a)	Haff und Pregel	1894	Pfeiffer'scher Versuch —
39	C. Fraenkel (26a)	Rothes Wasser und Lahn bei Marburg	1894	Pfeiffer'scher Versuch +
40	Friedlein (26a)	Klinger'scher Brunnen, Danzig	1894	
41	Institut f. Infectionskrankheiten (26a)	Danzig, Krakauer Krämpe	29. VII. 94.	„ „ [Pfeiffer (131) 1895]
42	„	Danzig, Stagneter Graben	14. VIII. 94.	„ „ „ „
43	„	Danzig, Mottlau	14. und 24. VIII. 94.	„ „ „ „ „ „ „
44	„	Danzig, Plehnendorf	26. VIII. 94.	„
45	„	Danzig, Kurzebrack	15. X. 94.	„ „ „ „
46	„	Tolkemit am Haff	8. IX. 94.	„ „ „ „
47	„	Nakel	3. X. 94.	„ „ „ „
48	„	Teich, Grieslienen, Kreis Allenstein	3. X. 94.	„ „ „ „
49	Bonhoff (14)	Weichselwasser	1894	
50	Nicolle (119)	Wasser bei Constantinopel, während der Epidemie, mehrfach	1896	
51	Hankin (68)	Jumna, Ganges, Drain von Agra, zur Zeit der Epidemie, mehrfach	1896	
52	Dunbar	Elbe zwischen Eichbaum u. Allermöhe; Graben vor dem Deich	7. VIII. 96.	Pfeiffer'scher Versuch und Agglutination + (Dunbar 1896)
53	„	Elbe, Parkhotel, Teufelsbrück (unterhalb Hamburgs)	20. VIII. 96.	Agglutination + (Chol.-Ser. 1 : 1000, Dunbar 1896)
54		Elbe, oberhalb Pöschhafen	1896	

von Saheb Bagan bei Kalkutta, einem Tank, dessen Wasser von den Anwohnern zu Trink-, Wasch- und Badezwecken benutzt wurde.

Bei den zahlreichen Untersuchungen der folgenden Jahre, die theils aus theoretischem Interesse ausgeführt wurden, zum Theil auch der oben präcisirten Forderung genügen sollten, sind eine grosse Reihe von Vibrionen aufgefunden worden.

Viele von diesen zeigten bei sorgfältiger Prüfung gewisse Abweichungen, welche sie — je nach der Uebung der Untersucher — mit mehr oder weniger Sicherheit vom Choleravibrio unterscheiden liessen. Die wichtigsten unter ihnen sind unter Angabe der Unterscheidungsmerkmale in der Tabelle I zusammengefasst.

Neben diesen Befunden sind von mehreren Forschern, besonders zur Zeit von Epidemieen, Vibrionen im Wasser gefunden, welche nach dem damaligen Stande der Kenntnisse mit dem Choleraerreger identificirt wurden. Nur bei einem Theil dieser Vibrionen gelang es mit Hülfe der verbesserten Untersuchungsmethoden der folgenden Jahre, diese behauptete Identität zu bestätigen. Bei der Mehrzahl waren diese Prüfungen nicht mehr durchführbar, und für diese muss die Frage ihrer Choleranatur offen gelassen werden.

In der Tabelle II bringen wir eine Aufzählung der veröffentlichten Befunde von Choleravibrionen im Wasser, unter gleichzeitiger Angabe der Stämme, welche bei Prüfung nach der später zu besprechenden Pfeiffer'schen Versuchsmethode und nach der Agglutinationsreaction positiv auf Choleraserum reagirt haben.

Unter den in späterer Zeit nicht mit Choleravibrionen identificirten Vibrionen bieten einige ein gewisses historisches Interesse. Der von Pasquale (123) (1891) aus einem Schöpfbrunnen in Ghinda bei Massauah gezüchtete Vibrio zeigte ursprünglich viele Merkmale des typischen Choleraerregers, vor allem eine hohe Pathogenität. In den folgenden Jahren stellten sich indessen wesentliche Unterschiede zwischen ihm und dem Koch'schen Vibrio heraus, welche eine Zeit lang eine Verständigung der Pariser und Berliner Schule sehr erschwert haben, da jene den „Vibrio Massauah", diese den aus den 1892er Epidemieen Deutschlands isolirten Vibrio als typischen Choleraerreger auffasste. Jetzt kann der erstere endgültig als der Cholera nicht zugehörig betrachtet werden. — In anderer Richtung bemerkenswerth sind die eigenartigen Schlussfolgerungen, die J. Sanarelli (152) aus seinen Untersuchungen ableitet. Er konnte aus Roh- und Leitungswasserproben, die in und bei Paris entnommen waren, 32 Vibrionenstämme isoliren, welche in ihren Merkmalen einen allmählichen Uebergang vom Koch'schen Typus zu gewöhnlichen Saprophyten zu zeigen schienen.

Seine hierauf gegründete Vermuthung von der Arteinheit aller dieser Vibrionen mit dem Choleraerreger, von des letzteren Wandelbarkeit und Ubiquität erscheint heute nicht mehr richtig; denn R. Pfeiffer (131) (1895) stellte fest, dass eine Verwandtschaft zwischen dem choleraähnlichsten der Sanarelli'schen Vibrionen und dem Koch'schen Typus nicht besteht.

Im Hamburger hygienischen Institut sind seit der grossen Hamburger Epidemie (1892) unausgesetzt Versuche zur Isolirung von Choleravibrionen aus dem Wasser ausgeführt worden. Diese sehr ausgedehnten Untersuchungen führten an zahlreichen Punkten des Flusslaufes zur Auffindung von Vibrionen, deren Unterscheidung von den Choleravibrionen nach dem damaligen Stande der Kenntnisse grosse Schwierigkeiten bot. Oergel(34) fand zuerst am 19. Juli 1893 solche Vibrionen im Rohwasser der Hamburger Leitung. Nachdem diese Befunde sich auch in den folgenden Tagen und an vielen verschiedenen Punkten in der näheren und weiteren Umgebung Hamburgs wiederholt hatten, war die Besorgniss der Behörden vor einer Wiederholung der Zustände von 1892 sehr gross. Die geringen Unterschiede, welche bei fortgesetzter Beobachtung sich zwischen den hier aufgefundenen und echten Choleravibrionen ergaben, blieben zunächst noch in dem Rahmen der oft constatirten Variationen des Koch'schen Typus. Nachdem aber ähnliche Mikroben bei der Untersuchung aller benachbarten grossen Stromläufe — in der Elbe von Dresden bis Cuxhaven, in Havel, Unstrut, Oder, Rhein, Pegnitz, Ruhr, Amstel (nicht in der Weser, Weichsel[1] und einigen aus fremdländischen Flüssen, der Nordsee und dem Atlantischen Ocean entnommenen Proben) — gefunden waren (35). ohne dass irgendwo Choleraepidemieen aufgetreten waren, schien es wahrscheinlich, dass es sich hier um Vibrionen handelte, welche dem Choleraerreger sehr ähnlich, aber nicht mit ihm identisch wären. Zu welchen Täuschungen indessen solche Schlussfolgerungen führen können, zeigte sich nur zu deutlich bei der 1893er Epidemie in Hamburg (145). Die Cholera, welche seit etwa drei Wochen sporadisch besonders bei am Hafen beschäftigten Personen aufgetreten war, befiel in Folge einer am 16. September erfolgten zufälligen Beimischung rohen Elbwassers zum filtrirten Leitungswasser innerhalb von acht Tagen 112 Menschen, verschwand aber bald nach Beseitigung der fraglichen Infectionsquelle. Die hieraus sich ergebende Vermuthung, dass unter den gefundenen Wasservibrionen auch einige Choleraerreger gewesen seien, hat sich durch spätere Untersuchungen in der That bestätigt. Es sind nämlich eine geringe Zahl von Stämmen, die im Herbst 1893 in der Hamburger

[1] In verschiedenen Weichselwasserproben wurden Vibrionen gefunden, die indessen mit Choleraerregern eine nur entfernte Aehnlichkeit zeigten.

Wasserleitung, in der Elbe nahe bei Hamburg, in der Ruhr bei Ruhrort und in der Oder bei Stettin gefunden wurden, wie unten näher auszuführen, als echte Choleravibrionen aufzufassen.

Auch von anderen Beobachtern sind in der Folgezeit Befunde sehr choleraähnlicher Vibrionen veröffentlicht, so von Wernicke (163) in der Elbe bei Wittenberge, von Kutscher (92) in den Giessener Gewässern und von Cadeddu (23) in den salzhaltigen Sümpfen von Cagliari.

Vom Hamburger Institut aus sind in Fortsetzung der 1893 begonnenen Arbeiten in den folgenden Jahren regelmässige Nachforschungen nach Vibrionen in den Filtrationsanlagen und dem Hamburger Leitungswasser, sowie dem gesammten Elbstromgebiet von Lauenburg bis Cuxhaven vorgenommen worden. Dieselben haben bis 1897 jährlich zur Auffindung einer grösseren, in den letzten Jahren einer geringeren Zahl choleraähnlicher Vibrionen geführt. Eine genaue Mittheilung über die bis Ende 1895 isolirten Stämme ist von Neumann und Orth (116) veröffentlicht worden. Seit Beginn der Untersuchungen sind im Ganzen 389 derartige Vibrionen isolirt worden. (Vgl. Tabelle III.) Ein grosser Theil dieser werthvollen Sammlung ist nach mehrjähriger Fortzüchtung kürzlich bedauerlicher Weise zu Grunde gegangen.

Es musste auffallen, dass die weitaus grösste Zahl derselben im Hochsommer und Herbst, d. h. in der eigentlichen Zeit der Choleraepidemieen,

Tabelle III.

Im Hamburger Institut aus Wasser isolirte choleraähnliche Vibrionen.

Jahrgang	Zahl der untersuchten Wasserproben	Aufgefundene Vibrionen	darunter leuchtend	darunter n. leuchtd.
1893	600	150	92	58
1894	209	19	1	18
1895	347	93	39	54
1896	485	65	13	52
1897	223	33	19	14
1898	46	11	7	4
1899	134	2	—	2
1900	258	5	—	5
1901	100	2	1	1
1902	446	9	—	9
Summa:	2848	389	172	217

und zwar relativ oft an besonders verunreinigten Partieen der Wasserläufe sich fand. Es hat den Anschein, als bestände zwischen den genannten Arten und dem Choleravibrio auch in Bezug auf die Lebensbedingungen eine gewisse Aehnlichkeit. Vielleicht ist daher die Vermuthung gerechtfertigt, dass an den Orten, wo regelmässig choleraähnliche Vibrionen auftreten, auch eingeschleppte Choleravibrionen ein besonders gutes Fortkommen haben und bei im Uebrigen günstigen Bedingungen leicht zur Verbreitung einer Epidemie beitragen könnten.

II.

Nachdem im Vorstehenden darauf hingewiesen ist, dass der sichere Nachweis der Choleraerreger im Wasser von grosser Bedeutung, aber auch mit nicht geringen Schwierigkeiten verbunden ist, wollen wir nunmehr auf die hier zur Zeit üblichen Methoden der Isolirung und Identificirung der Wasservibrionen eingehen.

In Betreff der hierbei verwendeten culturellen Methoden stehen wir noch im Wesentlichen auf dem Boden der 1893 erschienenen Arbeit von R. Koch (84) („Ueber den augenblicklichen Stand der Choleradiagnose"). Neu hinzugekommen sind dagegen die hochwichtigen biologischen Methoden (der Pfeiffer'sche Versuch und die Agglutination), durch welche erst die Stellung einer sicheren differentiellen Diagnose ermöglicht wird.

Robert Koch (83) bediente sich bei seinen grundlegenden Choleraforschungen (1884) der Gelatineplatte. Von dem zu untersuchenden Material wird eine geringe Menge in verflüssigter Gelatine gleichmässig vertheilt; mit dieser Aufschwemmung werden die üblichen Verdünnungen angelegt und die letzteren auf Platten ausgegossen. Nachdem die Gelatine erstarrt ist, wird sie bei 20 bis 24° C. bebrütet. Nach 24 Stunden waren dann auf diesen Platten die charakteristischen Colonieen der Choleravibrionen auffindbar. Auch in einigen mit Cholerastühlen stark inficirten Wässern gelang Koch nach dieser Methode die Auffindung des Vibrio. Während nun dieses Verfahren bei den Cholerastühlen, in deren Schleimflocken sich oft Reinculturen des Erregers fanden, meist zum Ziele führte, war es zum Nachweis der Vibrionen im Wasser nicht ohne Weiteres geeignet; es hat daher, direct angewandt, nur selten und unter besonders günstigen Umständen zu einem positiven Ergebniss geführt (Koch [83], Tank bei Kalkutta, 1884; Carl Fraenkel [51], Zollhafen bei Duisburg, 1892, u. A.). Durch die schneller wachsenden peptonisirenden Wasserbakterien werden die Gelatineplatten rasch verflüssigt, so dass es unmöglich wird, die langsamer wachsenden Cholerabakterien aufzufinden.

Wir kommen aber zum Ziel auch bei der Untersuchung derartigen Materiales, aus welchem durch directe Verfahren (wie z. B. das der Gelatineplatte) Vibrionen nicht gezüchtet werden können, unter Zuhülfenahme einer „Anreicherungsmethode". Als Anreicherungsmethoden bezeichne ich die Verfahren, bei denen in einer Vorcultur dem Wachsthum der Vibrionen im Vergleich zu den anderen Bakterien solcher Vorschub geleistet wird, dass die aus dieser Vorcultur angefertigten Gelatineplatten die Isolirung und spätere Identificirung der Vibrionen gestatten.

Zwar hat schon Schottelius (153) (1885) gefunden, dass die Choleravibrionen in flüssigen Nährsubstraten bei Körpertemperatur früher als die meisten anderen Bakterien an die Oberfläche steigen und hier ein Häutchen bilden können — eine Eigenthümlichkeit, die auf ihrem hohen Sauerstoffbedürfniss und ihrer ausgezeichneten Beweglichkeit beruht. Schottelius versetzte etwa 100 ccm Fäces mit der mehrfachen Menge Peptonbouillon und konnte nach 10 bis 12 Stunden bei 37 bis 40° C. im Oberflächenhäutchen Vibrionen in überwiegender Menge nachweisen. Schottelius hat aber anscheinend von der nachherigen Isolirung und Identificirung der Vibrionen mittels der Gelatineplatten abgesehen; es ist daher dieses Verfahren nicht eine Anreicherungsmethode in obigem Sinne.

Indessen hat schon Gruber (58) zu seinen Untersuchungen (1887) aus einer Vorcultur nach Schottelius Platten angelegt und konnte — oft erst nach einigen Tagen — selbst in starkfauligen Kothgemischen Choleravibrionen nachweisen. Die Anreicherungsmethode von Karlinski (81) (1890) beruht auf der Verwendung von Pankreasbouillon, aus deren Oberflächenhäutchen Gelatineplatten angefertigt werden.

Bei dem Anreicherungsverfahren, welches sich bei den ausgedehnten Arbeiten der letzten Jahrzehnte als das zuverlässigste bewährt hat, wird als Vorcultur eine wässerige Peptonlösung verwendet.

Heim (71) hat im September 1892, vor allem zur Auffindung von Choleravibrionen im Wasser, empfohlen, die zu untersuchenden Proben (am besten $^1/_4$ bis $^1/_2$ Liter oder mehr) an Ort und Stelle (als Ersatz für die Bouilloncultur) mit 2 Procent Pepton, 1 Procent Kochsalz zu versetzen. Womöglich sollten noch sterilisirte Choleraculturen hinzugefügt werden. Aus dem Oberflächenhäutchen werden an jedem der folgenden Tage Gelatineplatten angelegt. Auch der einfache Zusatz von Harn zu den Proben soll nach ihm eine Anreicherung der Vibrionen einleiten.

Unabhängig von Heim fand Dunbar (36), dass in der 1 procentigen Pepton- und 0·5 procentigen Kochsalzlösung, die Dunham (41) zur Anstellung der Rothreaction empfohlen hatte, bei 37° C. Choleravibrionen schon nach 3 bis 6 Stunden an die Oberfläche steigen. Er erkannte den Werth dieser Lösung als eines electiven Nährbodens, in dem die Vibrionen sehr

früh ein vor anderen Bakterien begünstigtes Wachsthum zeigen. Die Methode bestand darin, dass eine Schleimflocke oder eine Platinöse der zu untersuchenden Stuhlprobe (später gleichzeitig 1 ccm oder mehr, im Erlenmeyer'schen Kölbchen) in diese Lösung verimpft und aus der Oberfläche der Vorcultur nach 3 bis 6 Stunden Gelatineplatten angelegt wurden. Auf diese Weise gelang auch in schwierigeren Fällen der Nachweis von Choleravibrionen. — Die Methode bewährte sich bei den sehr umfangreichen Untersuchungen zur Zeit der Hamburger Choleraepidemieen (1892 und 1893) ausgezeichnet.

Nach dem gleichen Verfahren wurde auch die Untersuchung des Wassers vorgenommen. Seit dem Februar 1893 werden die Nachforschungen auf Vibrionen im Wasser so angestellt, dass das in sterilem Glaskölbchen entnommene Quantum von 50 ccm [1] der verdächtigen Probe mit ca. 5 ccm einer 10 procentigen Pepton- und 5- bezw. 10 procentigen Kochsalzlösung versetzt, 3 bis 6 Stunden bei 37° C. bebrütet wird. Aus der obersten Schicht, eventuell aus einem inzwischen gebildeten Häutchen, wird nach Ablauf der angegebenen Zeit, bezw. auch nach 12 bis 18 Stunden eine Oese entnommen, in flüssiger Gelatine vertheilt und zu Platten verarbeitet. Die Gelatineplatten werden bei 22 bis 23° C. mindestens 12 Stunden bebrütet. Eine zweite Oese kann auf Agarplatten oberflächlich ausgestrichen werden, welche bei 37° C. bebrütet werden. Der Vortheil der Agarplatten, dass sie die Körpertemperatur vertragen, bei welcher der Choleravibrio sehr rasch wächst, wird aber nur zu häufig aufgehoben durch das wenig typische Aussehen der betreffenden Colonieen und den daraus sich ergebenden Zeitverlust. Auf der Gelatineplatte wächst der Vibrio auch bei der Temperatur von 23° C. (die möglichst nicht unterschritten werden sollte) doch so, dass er nach 12 bis 18 Stunden ziemlich charakteristische Colonieen bildet. Jede auf den Platten gewachsene Colonie, welche in ihrem Wachsthum mit dem Choleravibrio auch nur entfernte Aehnlichkeit zeigt, wird jetzt isolirt und auf ihre eventuelle Identität mit dem letzteren geprüft.

Die Identificirung der so gewonnenen Reinculturen mit dem Choleravibrio.

Diesem Zweck dient eine grössere Zahl von Methoden, welche auf gewissen morphologischen und biologischen Eigenthümlichkeiten der Choleravibrionen beruhen. Die wichtigsten und zuverlässigsten unter ihnen sind:

[1] Aus äusseren Gründen wurden nur 50 ccm entnommen. Wenn möglich empfiehlt es sich grössere Quanten (etwa 1 Liter) des verdächtigen Wassers in entsprechendem Verhältniss mit der 10 procentigen Peptonlösung zu versetzen und auf eine Anzahl Kölbchen vertheilt, zu bebrüten.

a) culturelle und morphologische Eigenschaften:

1. das charakteristische Wachsthum auf der Gelatineplatte, unter Verflüssigung derselben,
2. die Cultur in Peptonlösung:
   Oberflächenwachsthum bei 37°,
   mikroskopisch typische Vibrionenform,
   Nitrosoindolreaction,
3. das Fehlen jeder Phosphorescenz der jungen Agarcultur,

b) die Pathogenität für Meerschweinchen,

c) der Pfeiffer'sche Versuch,

d) die Agglutination.

a) Culturelle und morphologische Eigenschaften.

Was zunächst die culturellen und morphologischen Eigenthümlichkeiten der Choleravibrionen betrifft, so kommt in erster Linie in Betracht das schon von R. Koch (83) (1884) constatirte charakteristische Wachsthum derselben auf der Gelatineplatte. Auf der aus der Vorcultur angelegten Gelatineplatte werden in der Regel diese Merkmale deutlich erkennbar sein. Zur Anstellung der oben angeführten Reactionen und zur Gewinnung einer Reincultur wird aus jeder irgendwie verdächtigen Colonie der Gelatineplatte etwas Bakterienmaterial unter dem Mikroskop entnommen und auf Gelatineröhren, Peptonlösung und Schrägagar verimpft. Die eigenartige Verflüssigung, welche der Choleravibrio in Gelatine hervorruft, wird am besten im Röhrchen erkannt, da auf der Platte die Colonieen oft nicht lange genug isolirt bleiben. Die Reincultur auf Agar bildet den Ausgangspunkt der später zu besprechenden biologischen Untersuchungsmethoden. Zur Voruntersuchung dient die Cultur in Peptonlösung.

Während viele Vibrionen in der Peptonlösung bei 37° schlecht oder gar nicht wachsen, vermehrt sich der Choleravibrio besonders in den oberen Schichten der Lösung sehr rasch und bildet in der Regel ein Oberflächenhäutchen. Auf dieser Eigenschaft beruht auch die oben besprochene Verwendung des Peptonwassers zur Vorcultur. Es dient die Peptoncultur ferner zur mikroskopischen Beobachtung der eingeimpften Vibrionen. Im hängenden Tropfen, der nach etwa 6stündiger Bebrütung von der Oberfläche der Lösung angelegt wird, sind die Vibrionen an ihrer Form und charakteristischen Beweglichkeit erkenntlich. Die Feststellung der typischen Vibrionenform wird gesichert durch gleichzeitige

Beobachtung des gefärbten Präparates, welches zweckmässig aus der Agarcultur angelegt wird. Die Peptonlösung dient endlich zur Anstellung der Nitrosindolreaction.

Die Nitrosoindolreaction (Rothreaction) wurde bekannt (1885) durch die unabhängig und etwa gleichzeitig veröffentlichten Arbeiten von Bujwid (21), Dunham (41), Pöhl (140), Brieger (19) und Anderen, in welchen gezeigt wurde, dass in Bouillon- oder Peptonwasserculturen von Choleravibrionen nach Ansäuerung eine lebhafte Rothfärbung eintritt. Nach Dunham's Erfahrungen kann man die intensivste Reaction beobachten bei Verwendung einer 1- bis 2procentigen Pepton- und 0·5procentigen Kochsalzlösung, wobei man zur Ansäuerung Schwefelsäure benutzt. Der entstehende Farbstoff ist nach den Untersuchungen von Brieger und E. Salkowski (151) (1886) das Nitrit eines Indolderivats: die Choleravibrionen bauen das Pepton zu Indol ab und reduciren in der Lösung vorhandene geringe Mengen von Nitraten zu Nitriten. Nachdem sich gezeigt hat, dass die oben beschriebene Peptonlösung gelegentlich nicht die genügende Menge von Nitraten enthält, bedienen wir uns neuerdings nach Bleisch's (12) Angabe einer Lösung, welche 2 Procent Pepton (Witte), 0·5 Procent Kochsalz und eine ausprobirte geringe Menge Kaliumnitrats enthält. Nach 6stündiger Bebrütung bei 37° C. entsteht auf Zusatz von 10 Tropfen 25procentiger Schwefelsäure zu 10 ccm Choleraculturflüssigkeit eine intensiv weinrothe bis dunkelburgunderrothe Färbung.

Die verwendeten Reagentien müssen chemisch rein, vor allem frei von jeder Spur von Nitriten sein. Von grosser Wichtigkeit ist der Umstand, dass bei einer nur geringen Verunreinigung durch andere Bakterien die Bildung des Farbstoffes ganz ausbleiben kann.

Zeitweise glaubte man, dass nur der Choleravibrio die Rothreaction gäbe. Indessen konnte man sie im Laufe der Jahre auch bei vielen anderen Vibrionen constatiren, zunächst beim Vibrio Metchnikoff, sodann beim Vibrio Berolinensis, Danubicus und der Mehrzahl der Hamburger Wasservibrionen. Petri (125) wies nach, dass die Fähigkeit der Indolbildung vielen ganz verschiedenen Bakterien zukommt. Er glaubte aber, dass in den üblichen Nährmedien nur gewisse Vibrionen- und Proteusarten zugleich eine für das Zustandekommen der Rothreaction hinreichende Reduction der Nitrate zu Nitriten hervorrufen könnten. Diese Ansicht bedarf wohl einer gewissen Modification, da bei den oben erwähnten Hamburger Wasseruntersuchungen zuerst durch Oergel (1893), später regelmässig in beträchtlicher Zahl plumpe Stäbchen mit zum Theil recht intensiver Rothreaction aufgefunden sind. Im letzten Jahre ist es gelungen, etwa 70 solcher Individuen zu isoliren. Dieselben dürften nach unseren vorläufigen Untersuchungen jedenfalls mehr als einer Art angehören.

Diese Reaction, welche nach obigen Darlegungen nicht eine specifische ist, beansprucht heutzutage nur den Werth einer leicht auszuführenden Methode, mit welcher es bei den in Frage kommenden Untersuchungen gelingt, gewisse Vibrionen von vornherein als nicht choleraverdächtig auszuscheiden. Bei den Stämmen, welche sich morphologisch und culturell nicht von Choleravibrionen unterscheiden und eine typische Nitrosoindolreaction zeigen, wird die weitere Prüfung mittels nachfolgender Methoden vorgenommen.

Als Ausgangspunkt für diese Methoden dient die aus der choleraverdächtigen Gelatinecolonie angesetzte Agarcultur, auf welcher inzwischen, nach Ablauf von 6 Stunden, in der Regel ein hinreichendes Wachsthum stattgefunden hat.

Zunächt hat die Beobachtung der Phosphorescenz insofern eine Bedeutung, als alle Vibrionen, welche leuchten, nicht der Cholera zugehören. Es ist durch die Entdeckung Kutscher's (91) (1893) bekannt geworden, dass gewisse Vibrionen, welche dem Choleraerreger morphologisch und culturell sehr nahe stehen, in jungen Culturen leuchten, während echte Choleravibrionen dieses nicht thun. Man kann in der Dunkelkammer beobachten, wie die Culturen solcher Vibrionen ein grünlichweisses Licht ausstrahlen, das oft zur Ablesung des Zifferblattes der Uhr genügt, das aber manchmal so schwach ist, dass es erst nach 10 bis 15 Minuten langer Adaptation der Augen mit Mühe wahrgenommen werden kann. Zwischen der 6. und 18. Stunde pflegt die Phosphorescenz am deutlichsten zu sein; zuweilen wird sie nur in den ersten 2 bis 3 Stunden, selten noch nach eben soviel Tagen beobachtet. Wo es darauf ankommt, sicher festzustellen, ob eine Cultur innerhalb eines gewissen Zeitraumes überhaupt geleuchtet hat, kann man sich nach unseren Versuchen mit Erfolg der photographischen Methode bedienen. Ein durch eine Pappblende theilweise verdecktes Stück eines lichtempfindlichen Film wird um das Culturröhrchen mit Gummiringen befestigt, und das Ganze lichtdicht verpackt in den Brütraum bei 37° C. gestellt. Eine nur sehr geringe Lichtentwickelung der Cultur ist auf dem Film sehr deutlich erkennbar.

Man hat in früheren Jahren bei der Differentialdiagnose der Choleravibrionen vorübergehend der Phosphorescenz viel zu viel Bedeutung beigemessen, insofern als man glaubte, dass echte Choleravibrionen die Erscheinung nicht zeigten, und alle choleraähnlichen Vibrionen zeitweise leuchten könnten. Ersteres hat sich in der That bestätigt, trotz der abweichenden Behauptungen einzelner Autoren wie Rumpel (149) und Weleminsky (162). Die letztere Vermuthung ist aber nach den hier und anderwärts ausgeführten zahlreichen Untersuchungen keineswegs zu-

treffend; denn es sind im Laufe der Jahre viele nur choleraähnliche Vibrionen aufgefunden worden, die weder bei der Isolirung, noch später geleuchtet haben. Während nun die anfänglich leuchtenden Stämme bei späterer Fortzüchtung diese Eigenschaft theilweise beibehalten, theilweise für kürzere oder längere Zeit verlieren können, haben die anfänglich nicht leuchtenden Arten die Fähigkeit der Phosphorescenz nicht erworben.

Die eigenartige, schon früher durch Pflüger (138) (1883) bekannt gewordene Thatsache der Lichtentwickelung durch Bakterien hat den Anlass gegeben zu vielen eingehenden Untersuchungen, deren wichtigste Ergebnisse wir hier kurz anführen wollen. Das Spectrum der phosphorescirenden Bakterien ist nach Forster (50) und Beyerinck (8) continuirlich, zeigt nach Roth und Violett hin nur geringe Ausdehnung (D-G) und erscheint — bei Vergleich mit dem Glühlichtspectrum — nach dem violetten Ende zu verschoben.

Bei mikroskopischer Betrachtung der Plattenculturen von Leuchtbakterien glaubte Ludwig (101) über den nichtleuchtenden Colonieen kleine bakterienfreie leuchtende Bläschen zu sehen. Er meinte hierin eine Bestätigung der Radziszewski'schen Theorie gefunden zu haben, welcher die Phosphorescenz erklärt als eine Zersetzung des Nährsubstrats durch vom Bacterium gebildete Leuchtkörper, „Phosphorescenten". Dagegen fanden Lehmann und Tollhausen (96), dass die Filtrate leuchtender Bakterien nicht phosphoresciren, und schlossen hieraus, dass die Lichtentwickelung intracellulär stattfände. Jedenfalls ist sie von der Lebensthätigkeit der Bakterien durchaus abhängig, während umgekehrt ein Leben ohne Phosphorescenz bei ihnen öfters beobachtet werden kann.

Beyerinck hält die Phosphorescenz für eine hinreichend charakteristische Eigenthümlichkeit, um die Vereinigung aller leuchtenden Bakterien zu einer grossen Gruppe zu gestatten. Wenn er auch hierin entschieden zu weit geht, so werden jedenfalls unter einer Gruppe morphologisch ähnlicher Mikroben, z. B. unter den Vibrionen, die phosphorescirenden durch diese Eigenschaft so sehr charakterisirt, dass man die leuchtenden von den nichtleuchtenden Arten trennen und zu besonderen Untergruppen zusammenfassen darf. Man muss dabei berücksichtigen, dass die Eigenschaft der Phosphorescenz nicht constant ist, dass manche Culturen dieselbe alsbald nach der Uebertragung auf künstliche Nährböden verlieren. Ja, wir müssen nach den weiter unten zu besprechenden Versuchen annehmen, dass manchmal Vibrionen der Gruppe der phosphorescirenden angehören, obgleich eine Phosphorescenz seit ihrer Isolirung an ihnen niemals beobachtet worden ist. Sollte es jemals gelingen, die Phosphores-

cenz unter gewissen Umständen sicher hervorzurufen, wo sie verschwunden war, so würde die Phosphorescenz als Diagnosticum werthvoll werden.

b) Die Pathogenität.

In den bis 1893 erschienenen Arbeiten, vor Allem in derjenigen von R. Koch (84) („Ueber den augenblicklichen Stand der Choleradiagnose"), wird auf die Constatirung der Virulenz der fraglichen Vibrionen Gewicht gelegt. Nun hat sich einerseits bei den meisten Hamburger Wasservibrionen eine hohe Pathogenität für Meerschweinchen gezeigt, andererseits scheint es nicht ausgeschlossen, dass echte Choleravibrionen im Wasser und Schlamm der Flüsse unter gewissen Umständen ihre Virulenz verlieren könnten. Wenn daher dieser Methode auch jetzt noch eine gewisse Bedeutung nicht abzusprechen ist, so kann sie doch nicht mehr als ausschlaggebend für die Feststellung der Choleranatur des fraglichen Vibrio betrachtet werden.

Wie oben ausgeführt, haben viele von denjenigen, welche um das Jahr 1893 herum die Aufgabe hatten, grössere Wasserversorgungen mit Oberflächenwasser zu überwachen, in dem zum Gebrauch bestimmten Wasser Vibrionen gefunden, welche sie nach dem damaligen Stande der Diagnostik nicht mit Sicherheit von Choleravibrionen unterscheiden konnten. Nur wer in jener Zeit zu entscheiden hatte, ob es sich bei den angedeuteten Befunden um echte Choleravibrionen handelte, und sich darüber schlüssig werden musste, ob eine amtliche Meldung zu erstatten sei oder nicht, kann in vollem Maasse die Wirkung begreifen, welche R. Pfeiffer's (129) erste Mittheilungen über seine specifisch differentialdiagnostische Methode ausübten. Durch diese Entdeckung gelang es auf einmal, Gruppen von Vibrionen, die man bis dahin nicht zu unterscheiden vermocht hatte, unter einander abzugrenzen. Zwar gab es, wie wir sahen, einige Stämme, welche schon früher wegen ihrer Phosphorescenz als der Cholera nicht zugehörig betrachtet werden konnten; aber auch nach Ausscheidung dieser blieb ein grosser Rest, dem dies Unterscheidungsmerkmal nicht zukam. Solche Vibrionen kann man auch heute noch von echten Choleravibrionen mit Bestimmtheit nur unterscheiden bei Anwendung der Pfeiffer'schen Methode oder der Verfahren, welche sich inzwischen aus ihr entwickelt haben. Diese Umstände geben uns den Anlass, auf die letzterwähnten Methoden näher einzugehen.

c) Der Pfeiffer'sche Versuch.

Bei seinen Untersuchungen über die intraperitoneale Cholerainfection der Meerschweinchen fand Pfeiffer (127, 128), dass bei Injection hinreichender Quantitäten von Choleravibrionen die Versuchsthiere unter

starkem Temperaturabfall innerhalb 24 Stunden an einer acuten Peritonitis, bei Anwendung noch grösserer Mengen an einer Vibrionensepticämie zu Grunde gingen. Bei Injection einer kleineren Menge lebender oder abgetödteter Choleracultur bleibt das Thier am Leben und ist dann activ immun geworden gegen die mehrfache tödtliche Dosis. Eine passive Immunisirung der Meerschweinchen gelingt durch Injection kleiner Mengen des Serums von Thieren oder Menschen, welche eine Cholerainfection überstanden haben.

Zur Beobachtung der Vorgänge in der Bauchhöhle nach Injection von Vibrionen wurden nach Issaeff (75) Tröpfchen Peritonealexsudats von Zeit zu Zeit mit feinen Glascapillaren entnommen und im hängenden Tropfen untersucht. Während im nicht vorbehandelten Thiere eine üppige Entwickelung der lebhaft beweglichen Vibrionen stattfand, sah man dieselben im immunisirten Thier bald unbeweglich werden, zu grossen Kugeln aufquellen, später zu feinen Körnchen zerfallen und sich allmählich ganz auflösen.

Die Specificität dieses Versuches wurde von Pfeiffer nach vergleichenden Versuchen an Choleravibrionen, Vibrio Metchnikoff und einigen anderen behauptet. Dunbar (37, 38) konnte in grösseren Versuchsreihen diese Erfahrungen am reichen Material der hier isolirten sehr choleraähnlichen Wasservibrionen bestätigen und zugleich die Mehrzahl derselben hierdurch sicher vom Choleraerreger unterscheiden. Auf die hier beobachteten Ausnahmen kommen wir später zurück. Ferner gelang es ihm durch Immunisirung von Thieren gegen einzelne nicht der Cholera angehörige Vibrionenstämme, unter den leuchtenden wie unter den nicht leuchtenden gewisse Untergruppen abzutrennen. Auch bei diesen Versuchen wurden die Schranken zwischen phosphorescirenden und nicht phosphorescirenden Vibrionen nicht durchbrochen.

Pfeiffer (130) hatte diese specifische Reaction, die unter dem Namen des Pfeiffer'schen Versuches bekannt ist, und deren Geltung eine sehr allgemeine ist, so zu erklären versucht, dass unter dem Einfluss der Immunisirung eine Umstimmung des Thierkörpers stattfände, und gewisse Zellen, vor allem die Peritonealendothelien, eine baktericide Substanz absonderten. Die neue Entdeckung stand im schroffen Widerspruch zu Metchnikoff's Theorie von der wesentlichen Bedeutung der Phagocyten bei dem Schutz der Thiere gegen eingedrungene Bakterien. Metchnikoff (110) behauptete, dass bei subcutaner Infection immunisirter Thiere die eingebrachten Vibrionen nicht körnig zerfallen, sondern an Ort und Stelle unverändert bleiben, bis die nach einigen Stunden in grösserer Menge eintreffenden Phagocyten sie aufnehmen. Nur im Innern dieser

Zellen könne man die körnige Umwandlung der Vibrionen, und ihr darauffolgendes Absterben beobachten.

Die von Pfeiffer damals geleugnete Auflösung der Vibrionen in vitro gelang Metchnikoff bei Zusatz frischer Leukocyten zur Mischung von specifischem Serum und Vibrionen. Von grundlegender Bedeutung war die Entdeckung Bordet's (15), dass im ganz frisch entnommenen Immunserum körniger Zerfall der Vibrionen eintritt, dass aber nach längerem Stehen oder nach Erhitzung des Immunserums auf 56° C. („Inactivirung") nur eine Zusammenballung, aber nicht eine Auflösung der Vibrionen stattfindet. Ein solches Immunserum kann durch Zusatz einer kleinen Menge ganz frischen Normalserums gewisser Thierarten „reactivirt" werden, d. h. die Fähigkeit zur Auflösung der Vibrionen wiedergewinnen.

Nach Bordet's Anschauung ist zum Zustandekommen der Reaction das Zusammenwirken zweier Substanzen nöthig: eine specifische, ziemlich haltbare „substance préventive" oder „sensibilisatrice", macht den Vibrio empfindlich für die Einwirkung des nicht specifischen, ziemlich labilen Alexins (eines Derivates der Leukocyten, Buchner).

Die weite Verbreitung dieser Vorgänge bei den verschiedensten Zellen des Thierkörpers und zugleich ihre hohe Specificität wurde nachgewiesen durch die Arbeiten von Bordet (16) über Erythrocyten, von Metchnikoff (111) über Leukocyten, von Landsteiner (93) über Spermatozoen, von v. Dungern (40) über Flimmerepithelien und von Lindemann (97) über Nierenepithelien. Gewisse cytolytische Substanzen kommen schon im normalen Serum vor, aber sie werden erst nach Injection der betreffenden Zellen in grösseren Mengen erhalten.

Eine Erklärung dieser eigenartigen und sehr verwickelten Vorgänge wurde von verschiedenen Seiten versucht. Erst Ehrlich ist es gelungen, die meisten der in Frage kommenden Erscheinungen und vor allem die bis dahin räthselhafte Entstehung der Antikörper zu erklären.

Ein näheres Eingehen auf diese hochinteressanten Hypothesen ist aus äusseren Gründen nicht möglich. Wir wollen hier nur soviel bemerken, dass nach Ehrlich der Vorgang der Cytolyse auf folgendem Vorgang beruht:

In einem Versuchsthier, das mit specifischem Zellmaterial (z. B. einer gewissen Art von Bakterien) geimpft worden ist, kommt es zur Bildung specifischer, im Blute kreisender Antikörper. Diese Antikörper verbinden sich durch eine „haptophore", d. i. bindende Gruppe mit dem betreffenden Bakterium, ohne dasselbe zunächst hierdurch zu schädigen. Die Auflösung der Bakterien wird bewirkt durch nicht specifische, wahrscheinlich enzymartige Substanzen des Blutes, die „Complemente". Die Einwirkung dieser Complemente auf die Bakterien wird also dadurch vermittelt, dass

sie durch die specifischen Antikörper, „Amboceptoren", mit denselben verkettet werden. Während nun die Amboceptoren ziemlich stabile Substanzen sind, zerfallen die Complemente schon bei einer Erhitzung auf 56° oder bei längerem Stehen des Serums. —

Um nach dieser Abschweifung in das theoretische Gebiet auf die praktische Ausführung des Pfeiffer'schen Versuches zurückzukommen, will ich zunächst darlegen, wie die oben gewonnene Reincultur der Prüfung nach dem Pfeiffer'schen Versuch unterworfen wird. Hierzu dient die aus der Gelatineplatte abgeimpfte Agarcultur, die nach 12 bis 18 Stunden meist üppig gewachsen ist, aber, wenn nöthig, schon eher zur Verwendung kommen kann. Den Ausgangspunkt der Versuche bildet die Feststellung der Virulenz der fraglichen Cultur, d. i. des Maasstabes ihrer Ueberlegenheit über die thierischen Zellen. Dieselbe wird nach Pfeiffer bestimmt als diejenige Bakterienmenge, welche ein 200 grm schweres Meerschweinchen bei intraperitonealer Einverleibung innerhalb 24 Stunden tödtet, „Dosis letalis minima".

Pfeiffer injicirte das fünf- bis zehnfache Multiplum der so bestimmten letalen Dosis, mit der entsprechenden Menge Choleraserum gemischt, in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens. Da nun die verwendete Vibrionenmenge nach Pfeiffer's Vorschrift zur Vermeidung störender Nebenwirkungen 2 mg nicht überschreiten darf, so sollte womöglich die Dosis letalis minima höchstens 0·5 mg betragen. Auch die zu injicirende Serummenge muss möglichst gering, das Serum entsprechend hochwerthig sein. Als Titer des Choleraserums bezeichnet man nach Pfeiffer die kleinste Menge desselben, welche 2 mg virulenter Choleravibrionen im Peritoneum eines 200 grm schweren Meerschweinchens innerhalb einer Stunde zum körnigen Zerfall bringt. Es empfiehlt sich ein Serum zu verwenden, dessen Titer wenige Bruchtheile eines Milligramms nicht überschreitet. Zur Controle dient das Serum eines normalen Thieres derselben Species, welche das Choleraserum geliefert hat.

Zur Anstellung des Pfeiffer'schen Versuches werden also abgestufte Mengen Choleraserums, z. B. das fünf- und zehnfache der Titerdosis, zu 1 ccm Bouillon hinzugefügt und mit je 1 Oese (2 mg) der fraglichen Cultur versetzt, Meerschweinchen von ca. 200 grm Gewicht intraperitoneal injicirt. Zur Controle wird eine grössere Menge Normalserums — etwa das zehnfache Multiplum der kleinsten verwendeten Choleraserummenge — mit 1 Oese Culturmasse und 1 ccm Bouillon vermischt, einem dritten Meerschweinchen injicirt. Ein viertes Meerschweinchen von demselben Gewicht erhält zur Feststellung der Virulenz $^1/_4$ Oese der fraglichen Cultur und ein weiteres Meerschweinchen die letale Dosis einer Choleracultur mit der

fünffachen Titerdosis des Choleraserums in analoger Weise intraperitoneal einverleibt.

Nach 20, 30 und 60 Minuten wird den Thieren mittels sterilisirter Glascapillare Bauchhöhlenexsudat entnommen und im hängenden Tropfen untersucht. Sind innerhalb dieser Zeit die Vibrionen in den Choleraserumthieren körnig zerfallen, in den Controlthieren dagegen in Form und Beweglichkeit unverändert, so ist die Choleranatur der fraglichen Vibrionen erwiesen.

So ist unter Anwendung dieser Methode der exacte Nachweis der feinsten Unterschiede zwischen morphologisch nicht differenzirbaren Bakterien in sehr vielen Fällen gelungen.

Auch in vitro lässt sich die baktericide Wirkung activirter Immunsera für die Differentialdiagnose mit bestem Erfolge verwenden. So hat kürzlich Shiga auf diese Weise die von Flexner, Kruse und Anderen aufgefundenen Ruhrbakterien mit den seinigen identificiren können.

Indessen stellte es sich gerade bei den besprochenen Vibrionenuntersuchungen heraus, dass in einzelnen Fällen die Methode versagte. Wenn nämlich der betreffende Vibrio zu wenig virulent ist, d. h. wenn seine Widerstandsfähigkeit gegen die Angriffe, denen er im Thierkörper ausgesetzt ist, zu gering ist, so kann er schon in der Bauchhöhle des nicht vorbehandelten Controlthieres körnig zerfallen. In solchen Fällen kann vermittelst des Pfeiffer'schen Versuches eine Entscheidung nur erfolgen, wenn man gewisse Kunstgriffe anwendet. Man muss entweder versuchen, die Virulenz des betreffenden Vibrio zu erhöhen, oder man muss durch wiederholtes Verimpfen des Vibrio auf Thiere ein Immunserum herstellen und dieses mit echtem Choleraserum in der Wirkung auf Choleravibrionen vergleichen. — Beide Verfahren aber sind zeitraubend und unsicher; und gerade bei der bakteriologischen Choleradiagnose ist eine schnelle und präcise Bestimmung ein dringendes Bedürfniss.

Eine Erklärung dieser Thatsachen ist vielleicht möglich unter Berücksichtigung der neueren Untersuchungen von Pfeiffer und Friedberger (137). Nach Annahme dieser Autoren beruht nämlich der Virulenzunterschied der Cholerabakterien auf ihrer verschieden starken Bindungsfähigkeit für die entsprechenden Receptoren. Demnach würde ein hochvirulenter Vibrio viel mehr Receptoren zu binden vermögen, als ein avirulenter. Letzterer könnte also schon durch eine geringe Zahl von Receptoren, wie sie im schwach wirksamen, specifischen oder gar im normalen Serum vorkommt, ausreichend gebunden und der Complementeinwirkung zugänglich gemacht werden. Es kommt hinzu, dass nach den im hiesigen Institut ausgeführten Untersuchungen, deren Ergebnisse inzwischen durch neuere Arbeiten bestätigt worden sind, die virulenten

Vibrionen gegen die verschiedenen Schädigungen viel resistenter sind, als die avirulenten.

Nun liegt aber in vielen Fällen das Bedürfniss vor, auch für avirulente Wasservibrionen eventuell den Nachweis ihrer Zugehörigkeit zur Cholera zu führen. Denn, selbst wenn man sich auf den Standpunkt stellen wollte, dass dieselben nicht mehr schädigen könnten, so würde auch der Nachweis avirulenter Choleravibrionen im Wasser naturgemäss von höchster Bedeutung für die Prophylaxe sein. Ein fernerer Uebelstand der Methode ist die Umständlichkeit derselben und die hohen Anforderungen, welche an die Geschicklichkeit des Operateurs gestellt werden, sowie die bei jeder Reaction nöthigen Opfer an Thiermaterial.

d) Die Agglutination.

Diese Schwierigkeiten wurden zum grossen Theil beseitigt durch eine neue Untersuchungsmethode, die wegen ihrer Einfachheit, Schnelligkeit und dabei kaum geringeren Zuverlässigkeit sich rasch eingebürgert hat. Sie beruht auf der Beobachtung von Gruber und Durham (59), dass ein Immunserum in vitro eine Emulsion der entsprechenden Bakterien noch in beträchtlicher Verdünnung zu Haufen zusammenballt, „agglutinirt". Diese Forscher empfahlen — unter gewissen Vorbehalten — die Verwendung der Agglutination zur Differentialdiagnose ähnlicher Bakterien, wie des Typhus- und Colibacillus, des Choleravibrio und seiner Verwandten.

Da die Agglutinationsmethode in meinen weiter unten zu beschreibenden Versuchen eine wichtige Rolle spielen wird, so mag an dieser Stelle eine nähere Besprechung derselben ihren Platz finden. Es dürfte sich zunächst empfehlen, einen Rückblick auf die historische Entwickelung dieser hochinteressanten Methode zu werfen.

Die ersten Beobachtungen hatten gezeigt, dass verschiedene Mikroben in ihrem specifischen Immunserum in grossen Flocken am Boden des Gefässes wachsen und die überstehende Flüssigkeit völlig klar lassen, während sie andere Nährflüssigkeiten gleichmässig trüben. Die Erscheinung wurde von Charrin und Roger (26) (1889) beim Pyocyaneus, von Metchnikoff (109) (1891) beim Vibrio Metchnikoff, von Issaeff (74) (1893) und von Washbourne (160) (1895) beim Pneumococcus, von Issaeff und Iványoff (76) (1894) beim Vibrio Iványoff (atypische Cholera) gefunden.

Bei Gelegenheit seiner ersten Beobachtungen über Bakteriolyse fand, wie erwähnt, Bordet (15) (1895), dass durch ein inactivirtes, verdünntes Immunserum Vibrionen immobilisirt und zu Haufen zusammengeballt werden, während sie in activirtem Immunserum körnig zerfallen. Die entsprechenden Beobachtungen machte er schon damals bei Erythrocyten.

Dass es sich hier um specifische Erscheinungen handelte, wurde von ihm vermuthet, aber noch nicht bewiesen.

Gruber und Durham (59) (1896), welche etwa gleichzeitig mit Bordet, aber unabhängig von ihm, die sofortige Haufenbildung von Mikroben in ihrem Immunserum beobachtet hatten, stellten zuerst fest, dass es sich hier um eine von den bisher beobachteten Immunitätsreactionen abweichende, bis zu einem gewissen Grade specifische Erscheinung handelte. Es gelang ihnen, die weitgehende, aber nicht absolute Specificität der Reaction für eine Reihe von Bakterien (Typhus, Coli, Cholera) festzustellen. Sie beobachteten die Agglutination mikroskopisch bei Beschickung eines Tropfens Immunserumverdünnung mit der Bakterienemulsion und makroskopisch bei Impfung einer Serumbouillonverdünnung mit dem Bacterium.

Kurz nach ihnen theilten Pfeiffer und Kolle (133) (1896) mit, dass sie die Reaction bei Typhusbacillen, Pfeiffer und Vagedes (134), dass sie dieselbe bei Choleravibrionen beobachtet hätten. Sie hielten die Bewegungshemmung und Entwickelungshemmung für das Wesentliche und sprachen von einer „specifischen Paralysinwirkung".

Im gleichen Jahre brachte Bordet (16) eine kurze historische Würdigung der Verdienste früherer Autoren um die Frage und zeigte zugleich, dass die Reaction nur eine Theilerscheinung der von ihm im activen Serum beobachteten Symptomentrias war (Immobilisirung, Haufenbildung, körniger Zerfall). Sein Verlangen, Angesichts der oft sehr schwierigen Differentialdiagnose ähnlicher Bakterien, bei der Anstellung der Serumreaction auch alle drei Punkte zu beachten, hat lange Zeit wenig Berücksichtigung gefunden.

Es wurde nämlich durch vielfache Versuche das allgemeine Vorkommen des Agglutinationsphänomens und seine wenigstens bedingte Specificität bewiesen.

Die Reaction ist in weitesten Kreisen bekannt geworden und hat für den Kliniker eine hervorragende Bedeutung gewonnen durch die Feststellung, dass unter gewissen Verhältnissen durch das Serum typhuskranker Menschen Typhusbacillen specifisch agglutinirt werden.

Gruber (62), welcher auf Grund der Ergebnisse seiner bisherigen Arbeiten derartige Verhältnisse vermuthete, forderte auf dem Wiesbadener medicinischen Congress (1896) die Kliniker auf, ihre Untersuchungen nach dieser Richtung hin auszudehnen. Die ersten Beobachtungen positiver Befunde bei der Anstellung dieser serodiagnostischen Reaction haben Widal (164) in Paris und Grünbaum (64) aus dem Gruber'schen Laboratorium veröffentlicht. Da diese Methode heutzutage so all-

gemein verbreitet und bekannt ist, dürfen wir wohl von einer eingehenden Besprechung derselben absehen.

Für die meisten Mikroben ist es in den folgenden Jahren mehr oder weniger leicht gelungen, agglutinirende Sera zu erhalten. Bedeutende Schwierigkeiten machten hierbei die Diphtheriebacillen (Nicolas [118] 1896), die Kokken[1] (Silvestrini [155] 1898) und vor allem die Tuberkelbacillen (Arloing und Courmont [5] 1898). Bei den Pneumokokken, die man bisher mit einer Ausnahme (Besançon und Griffon [9], 1900) nur in concentrirtem Serum hatte agglutiniren können, beobachtete Neufeld (115) (1902) unter der Einwirkung verdünnten Serums eine Anordnung zu langen, zierlich verschlungenen Ketten.

Weitere Untersuchungen bewiesen das Vorkommen der Reaction auch bei complicirter gebauten Mikroorganismen. Die zuerst im Hinblick auf praktische Zwecke von Bisserié unternommenen Versuche zur Klärung des hefetrüben Jungbieres durch ein Hefeserum wurden wissenschaftlich durchgeführt von Macfadyen (102) (1901) und Malvoz (106) (1901). Trotz der dicken Hülle und verwickelten Structur dieser Zellen gelang es beiden Beobachtern, Sera von mässiger Agglutinationskraft für gewisse Hefenarten zu gewinnen. Auffallend war hier, wie auch bei einigen der letztgenannten Bakterienarten die geringe Specificität der Wirkung. — Entsprechende Erfahrungen haben Malvoz und Defalle (31) mit der Agglutination von Sporen gemacht.

Selbst bei Flagellaten findet sich eine ähnliche Erscheinung, wie Laveran und Mesnil (95), allerdings im Widerspruch mit Rabinowitsch und Kempner (141), beobachtet haben. Ihre Beobachtungen, welche in der Folgezeit durch Jürgens (80) (1902) bestätigt worden sind, bezogen sich auf das im Rattenblut parasitisch lebende Trypanosoma Lewisii. Die vorher frei und lebhaft beweglichen Flagellaten vereinigen sich unter dem Einflusse des Serums inficirter Ratten zu zierlichen Rosetten, in denen die hinteren Pole nach dem Centrum, die vorderen, geisseltragenden Enden nach der Peripherie zugewandt sind. Mehrere Rosetten, durch die Kraft der Geisseln in Bewegung gesetzt, können sich zu complicirten Figuren verbinden. Nach heutiger Auffassung muss wohl auch dieses Phänomen mit der Agglutination in Beziehung gebracht werden, während frühere Beobachter, wie Bütschli (1878) und Chalachnikow (1888) es für eine Theilerscheinung der Fortpflanzung hielten.

Früher schon hatte Bordet (15) (1895) beobachtet, dass Erythrocyten einer Thierspecies agglutinirt wurden durch das Serum anderer Thiere, denen Blut der ersteren Art injicirt war.

[1] Kürzlich haben Kolle und Otto die Differenzirbarkeit der Staphylokokken durch die Agglutination nachgewiesen. *Diese Zeitschrift*, 1902, Bd. 41, H. 3.

Begreiflicher Weise haben die oben beschriebenen Befunde alsbald auch den Anlass gegeben zu mancherlei Erklärungsversuchen für diese interessanten Vorgänge. Der erste, welcher sich hiermit befasste, war Gruber (59) (1896). Er meinte, dass unter der Einwirkung des Immunserums die Bakterienhüllen aufquellen und klebrig würden, und dass in Folge davon die Bakterien selber verbacken, zusammengeballt würden. Ferner sollten durch die Quellung die Mikroben der Alexinwirkung erst zugänglich gemacht werden. Es sei also die Agglutination eine der Waffen des immunisirten Lebewesens gegen den eingedrungenen Mikroorganismus.

Nun gelang aber der Nachweis einer solchen Quellung bei vielen Nachuntersuchungen Pfeiffer (132), Bordet (16), Taurelli-Salimbeni, Widal (164) u. A. nicht. Nur wenige Forscher haben diese Angaben Gruber's bestätigt. Roger (147) (1896) sah bei einem Oidium albicans, das in seinem specifischen Meerschweinchenserum gezüchtet war, eine starke Verquellung der mehrschichtigen Membran. Achard und Bensaude (2) (1897) fanden eine beträchtliche Vergrösserung der Kapseln von Streptokokken durch Antistreptokokkenserum. Hädke (67) und Ziemke (169) (1897) beobachteten in stark wirksamen Seris Typhuskranker, Zabolotny (168) (1897) im Pestserum, Trumpp (158) (1898) im Cholera- und Typhusserum deutliche Aufquellung der betreffenden Bakterien. Allen Forschern macht Bordet (17) (1899) den Einwand, dass sie nicht durch vorheriges Erhitzen auf 55° C. ihre Sera inactivirt und dadurch die Alexine sicher zerstört hätten. Er selbst hat in derartig vorbehandelten Seris bei Mikroben wie Erythrocyten niemals Quellung gesehen. Entsprechende Beobachtungen haben Laveran und Mesnil (95) bei der Agglutination der Trypanosomen und Malvoz[1] bei derjenigen der Hefen gemacht.

Im Jahre 1899 gab Gruber (63) selbst die Quellungstheorie auf. Wie es scheint, war er nämlich zur Aufstellung seiner Hypythese wesentlich veranlasst worden durch die Beobachtung, dass im Dauerpräparat agglutinirter Bakterien die gefärbten Leiber der Mikroben von farblosen Höfen umgeben sind. Später aber traf er auch bei normalen Bakterien diese Erscheinungen öfters an. Ferner schien auch die Thatsache, dass feinste Tuschpartikeln in die Haufen agglutinirter Bakterien hineingeschwemmt werden können, sehr gegen eine Quellung und eher für eine gewisse Schrumpfung zu sprechen. Das gab Gruber den Anlass zu folgender Annahme: Es entständen durch das specifische Serum kleine

[1] Hr. Prof. Malvoz hatte die Liebenswürdigkeit, mir seine Erfahrungen hierüber brieflich mitzutheilen.

Rauhigkeiten an der Oberfläche der betreffenden Bakterien, wodurch das Zusammenkleben benachbarter Individuen verursacht würde. Er gab also keineswegs die Idee auf, dass bei der Agglutination die Verklebung das Wesentliche wäre. Vielmehr führte er als Analogon hierzu die Beobachtung R. Kobert's an, dass bei der Crotinagglutination rother Blutkörperchen ein Eiweisskörper des Stroma in eine schwer lösliche, klebrige Modification umgewandelt wird.

Mit den obigen Angaben schwer zu vereinigen ist die Beobachtung Neufeld's (115) (1902), welcher bei der oben beschriebenen eigenartigen Agglutination der Pneumokokken eine Quellung mit Sicherheit constatirt haben will. Bei Vermischung von gleichen Theilen inactivirten Immunserums und Bouilloncultur vergrösserten sich die Bakterien rasch auf das 2 bis 3fache ihres normalen Volumens, platteten sich an den Berührungsstellen ab und wurden besonders in den oberflächlichen Schichten schlechter färbbar. Merkwürdiger Weise gingen die ganzen Erscheinungen nach kurzer Erhitzung auf 100° C. zurück und stellten sich bei erneutem Serumzusatz wieder ein.

In der Mehrzahl der Fälle, vor allem bei typischer Agglutination, ist indessen der Nachweis einer Quellung nicht gelungen.

Weit energischer als gegen die Quellungshypothese wurde alsbald der Widerspruch laut gegen den von Gruber ferner behaupteten Zusammenhang der Agglutinine mit den specifischen Schutzkörpern. Pfeiffer und Kolle (133) (1896) konnten mit stärkeren Serumverdünnungen, welche in vitro nicht mehr wirksam waren, bei Thieren deutliche Schutzwirkung erzielen. Beim Wachsthum der Vibrionen in stärker verdünntem Serum wurden die Agglutinine viel rascher aufgebraucht, als die Schutzkörper. Von Gruber wurde die Richtigkeit der Pfeiffer'schen Versuchsanordnung in Frage gestellt. Bei einer Prüfung älterer, noch gut erhaltener Sera von R. Pfeiffer fand aber Mertens (108) in Bestätigung Pfeiffer'scher Angaben, dass die Sera in ihrem Gehalt an Agglutininen viel rascher heruntergehen, als in dem Gehalt an Schutzkörpern.

Aus den Beobachtungen Widal's (165) (1897), dass die specifische Serumreaction Typhuskranker nicht mit dem Beginn der Genesung eintritt, sondern bald in den ersten Tagen oder Wochen, bald erst im späteren Verlaufe der Krankheit ohne nachweisbare Abhängigkeit von der Schwere des Falles erscheint, und aus der Feststellung Stern's (157) (1897) von einer Steigerung der Agglutinine im Serum eines Kranken bei Eintritt eines Typhusrecidivs ergaben sich weitere Belege für einen Zusammenhang der Agglutination mit der Infection, nicht mit der Immunität.

E. Fraenkel und Otto (52) (1897) impften junge Hunde per os mit grösseren Quantitäten virulenter Typhusbacillen. Es kam ohne die

geringsten Krankheitserscheinungen zur Bildung eines Serums von hohem Agglutinationswerth. Entsprechende Befunde hatten Deutsch (32) (1899) bei Impfung von Meerschweinchen mit grossen Mengen von Typhusbacillen, Gengou (57) (1899) bei Impfung von Hunden mit dem ersten Vaccin Milzbrand, Castellani (24) (1901) bei Injection der Kruse'schen Pseudodysenteriebacillen beim Schaf.

Eine von Brieger (20) (1902) aus Typhusbacillen gewonnene Substanz erzeugte, den Versuchsthieren injicirt, nach Schütze (154) ein nur agglutinirendes, nicht bakteriolytisch wirkendes Serum.

In diesem Zusammenhang wollen wir auch einige, nicht direct hierhergehörige Arbeiten erwähnen, welche die Bildungsstätte der Agglutinine betreffen. Die diesbezüglichen Angaben sind allerdings noch recht widersprechend, und daher ist die Frage wohl noch nicht ganz spruchreif.

Gruber (59) (1896) hatte die Vermuthung ausgesprochen, dass die Agglutinine in den „Makrophagen" gebildet, an irgend einer Stelle des Körpers aufgestapelt und von hier allmählich an das Serum abgegeben würden und alsdann der Zerstörung anheim fielen. — Widal und Sicard (165) (1897) fanden den grössten Agglutiningehalt im Blutplasma der Typhuskranken, nächstdem im Serum, der Flüssigkeit von Vesicatorblasen, Oedemflüssigkeit, Eiter, eine geringe Menge in der Milch, den Thränen, dem Kammerwasser und Exsudaten. Das Agglutinationsvermögen des Urins wechselte und schien von seinem eventuellen Eiweissgehalt unabhängig. Stets erwiesen sich als unwirksam Speichel, Liquor cerebro-spinalis und der Inhalt der Samenblasen. — Aus dem Fehlen der Agglutinine des Pneumobacillus bovis in Leber und Milz der erkrankten Thiere schloss Arloing (4) (1897), dass sie in diesen Organen zerstört würden. Courmont (27, 28) (1897) fand bei der Section möglichst frischer Typhusleichen den stärksten Gehalt an Agglutininen im Blute und meinte daher, dass sie dort gebildet würden. Sie waren in serösen Exsudaten nur nachweisbar, wenn sich in denselben andere Mikroben, nicht wenn sich auch Typhusbacillen fanden; es liesse sich dies vielleicht erklären durch eine Bindung der Agglutinine vom Typhusbacillus im thierischen Körper, wie sie von einzelnen Autoren behauptet worden ist.

Pfeiffer und Marx (136) (1898) fanden, dass sich Agglutinine wie Schutzkörper der Cholera zunächst in der Milz bilden. Die gleiche Beobachtung machten van Emden (43) (1899) für den Bacillus lactis aërogenes, Jatta (77) (1900) für Typhus- und Colibacillen, Castellani (24) (1901) für die Bacillen der Dysenterie und Pseudodysenterie, sowie für den Typhusbacillus und zwei Colistämme.

Dagegen fanden Fodor und Rigler (48) (1898), Deutsch (32) (1899) und Rath (144) (1899) in den ersten Tagen nach der Typhusinfection nur die bakteriolytischen Substanzen in der Milz, aber die Agglutinine im Serum ihrer Versuchsthiere.

Durch die im Obigen wiedergegebenen Einwände scheinen die Hauptsätze der Gruber'schen Agglutinations-Theorie widerlegt.

Kurz nach Gruber's erster Veröffentlichung brachten Pfeiffer und Kolle (133) (1896) eine andere Erklärung der Haufenbildung. Nach ihrer Meinung kommt es bei der Reaction in vitro zunächst zur Immobilisirung und zu einer gewissen Entwickelungshemmung (nicht zur Abtödtung) der beeinflussten Bakterien. Sie sprechen von einer „specifischen Paralysinwirkung". Freilich reicht ihre Theorie nicht aus zur Erklärung der Agglutination von unbeweglichen Mikroben, Erythrocyten, sowie von Bakterien, welche auch nach Abtödtung durch Hitze oder gewisse Gifte die Reaction noch typisch zeigen können (Widal und Sicard (165) (1897). Wie früher angedeutet wurde, sieht man bei den Trypanosomen, wenn sie sich unter dem Einfluss ihres specifischen Serums zu Rosetten vereinigen, kein Erlahmen ihrer Geisselbewegungen. Aehnlich beobachtet man öfters, dass in einem Häufchen agglutinirter Cholera- oder Typhusbakterien einzelne Individuen kräftig zerrende Bewegungen ausführen. Durch obige Thatsachen wird auch die Hypothese Dineur's (33) (1898) widerlegt. Er glaubte nämlich, dass bei der Agglutination die Geisseln mit einander verkleben, sich dann allmählich mit einander verfilzen und in diesem Netzwerk von Geisseln die dazu gehörigen Bakterien an einander fesseln. Diese in der Folgezeit unhaltbar gewordene Anschauung war begründet auf der vollkommen richtigen Beobachtung von Malvoz (104) (1897), dass nach einer mechanischen Schädigung ihrer Membran (z. B. durch Abkratzen von der Oberfläche eines Filters) die Bakterien nur schwer oder gar nicht mehr agglutinirbar werden. Es reihen sich an diese Thatsache mehrere wichtige Beobachtungen an, welche alle für eine wesentliche Betheiligung der Bakterienhülle bei der Agglutination sprechen.

Harrison (69) (1901) fand, dass die nach Einwirkung von Pyocyanase schlanker gewordenen Typhusbacillen nicht mehr agglutinabel sind. Malvoz (106) (1901) hat darauf hingewiesen, dass die Agglutination leichter und in ungleich höheren Verdünnungen des specifischen Serums eintritt bei Mikroben mit vielen Geisseln oder mit starker schleimiger Hülle, als bei Bakterien, welche diese Eigenthümlichkeiten nicht besitzen. Dagegen gelang die Agglutination von Mikroorganismen mit dicker Kapsel (Hefen und Sporen) nur in ziemlich concentrirten Serumlösungen. Eine unter Malvoz' Leitung ausgeführte, sehr sorgfältige Arbeit von Defalle (31) (1902) hat in Fortführung dieses Gedankens quantitativ feststellbare

grosse Unterschiede zwischen mit Geisseln und Schleimhülle versehenen und nackten Bakterien einer und derselben Species (Bacterium mycoides) bezüglich ihrer Agglutinirbarkeit wie auch ihrer Fähigkeit zur Erzeugung eines agglutinirenden Serums kennen gelehrt. Malvoz hat ferner beobachtet, dass nach Monate langer Aufbewahrung von Hefen unter Chloroform in Folge einer Art von Selbstverdauung fast nur noch deren Kapseln übrig geblieben sind. Diese Kapseln sind nun gleich gut agglutinirbar wie die normalen Hefen und gleich geeignet zur Erzeugung eines agglutinirenden Serums.

Für die Aufstellung mehrerer neuer Theorieen fruchtbringend waren die Kraus'schen (89) Beobachtungen (1897) über das Auftreten specifischer Fällungen in den Filtraten alter Culturen von Cholera-, Typhus- und Pestbakterien auf Zusatz des betreffenden Immunserums. Die Anfangs bezweifelten Angaben von Kraus wurden in den folgenden Jahren für zahlreiche Substanzen bewiesen. Nach den Untersuchungen von Bordet, Tschistowitsch und Nolf ist die specifische „Präcipitation" eine weit verbreitete Reaction, und „Präcipitine" scheinen regelmässig gebildet zu werden, wenn einem Thier seinem Körper fremde, assimilirbare, eiweissähnliche Substanzen injicirt werden.

Paltauf (122), aus dessen Institut die Kraus'sche Arbeit hervorgegangen war, stellte die Hypothese auf, dass die Agglutination der Bakterien bedingt würde durch die Bildung specifischer Niederschläge, durch welche die Bakterien mechanisch niedergerissen würden. Die für gewöhnlich erst nach mehreren Stunden und auch dann noch nicht constant in filtrirten Flüssigkeiten auftretenden Präcipitate entstehen nach Nicolle (120) (1898) viel schneller, wenn feine Theilchen Talk oder Bakterien in der Flüssigkeit suspendirt sind. Es sollen vom Niederschlag auch Bakterien mitgefällt werden, welche durch das verwendete Serum allein nicht agglutinirt werden. Die Unrichtigkeit der letzteren Angaben konnten Gruber (63) (1899) und Radziewsky (142) (1900) bei Benutzung hinreichend beweglicher Bakterien beweisen. Paltauf's Theorie kann nicht die durch specifisches Serum bei Pneumokokken wie bei Trypanosomen hervorgerufene eigenartige Anordnung erklären. Ferner haben Nolf (121) bei Erythrocyten, Radziewsky (nicht ganz einwandsfrei) beim Bacterium coli, Bail (6) beim Typhusbacillus und Neufeld (115) beim Pneumococcus die Beobachtung gemacht, dass das Serum nach Ausfällung der Präcipitine noch deutlich agglutinirend wirkt. Sollte sich dies auch allgemein bestätigen, so wäre damit die Paltauf'sche Hypothese endgültig widerlegt. Vorläufig muss diese Frage noch als unentschieden betrachtet werden, da in einer neueren Veröffentlichung Kraus und von Pirquet (90) den Nachweis zu führen versuchen, dass Bakterienfiltrate neben den Präcipitinen auch Agglutinine zu binden vermögen.

Nach den obigen Ausführungen erscheint heutzutage der von Nicolle (120) (1898) unternommene Versuch, die Gruber'schen und Paltauf'schen Hypothesen zu vereinigen, als ein entschiedener Rückschritt.

Aus der — nach Eisenberg und Volk (42) (1902) unrichtigen — Beobachtung, dass nach sorgfältiger Waschung auf dem Chamberlandfilter junge Colibakterien gut, ältere kaum agglutinirt werden, sowie aus der Thatsache, dass Präcipitation nur in älteren Culturen beobachtet wird, schloss Nicolle, dass die agglutinable Substanz in der Aussenhülle junger Bakterien vorhanden wäre und mit der Zeit in das umgebende Medium diffundire. Diese Substanz, welche er zu isoliren suchte, soll sehr resistent sein gegen Sonnenlicht, Austrocknung und Temperaturen über 100° C. Sie soll in Wasser, Alkohol, Aether löslich sein. Dem widersprach Winterberg (166) (1899) auf Grund seiner Nachprüfungen der Nicolle'schen Versuche. — Aus den Arbeiten Bails (6) scheint hervorzugehen, dass die agglutinirende Substanz ein wirksames Bakterienproteïn (im Sinne Buchner's) ist.

Unter der Einwirkung des specifischen Serums quillt nun nach Nicolle (120) diese in der Aussenschicht der Bakterien befindliche agglutinirbare Substanz auf, wird „sichtbar" und verklebt die Hüllen benachbarter Mikroben. —

Von grösserer Bedeutung war die Betrachtungsweise Bordet's (17) (1899). Er unterschied zwei Phasen, die der Einwirkung des Serums, und die — physikalischen Gesetzen folgende — Zusammenballung der Zellen. In der ersten Phase wirken die Schutzkörper und Agglutinine des Serums auf das Bakterium ein. Erstere „sensibilisiren" es für die lösende Thätigkeit des Alexins, letztere bewirken in ihm gewisse noch nicht näher definirte Aenderungen in den Verhältnissen der Molekularattraktion. In Folge dieser Aenderungen im Gleichgewichtszustand zwischen Zelle und umgebender Flüssigkeit kommt es zur Zusammenballung und zum Ausfallen der Bakterien, zur Klärung der überstehenden Flüssigkeit. Es war in der That Bordet gelungen, eine Trennung der beiden Phasen zu demonstriren. In salzfreier Lösung werden die Agglutinine von Cholerabakterien gebunden, aber die Haufenbildung bleibt aus; auf Zusatz von etwas Kochsalz tritt sie in typischer Weise ein.

Analog dem zweiten Theil des Versuches schien die bekannte Erscheinung zu sein, dass in einer feinen Emulsion von Thontheilchen in destillirtem Wasser auf Kochsalzzusatz die suspendirten Partikeln ausfallen und die Flüssigkeit sich klärt. Schon Duclaux hatte eine ähnliche Theorie für Coagulation und Agglutination aufgestellt, und die grosse Aehnlichkeit beider Processe betont. Bei der Coagulation werden nach seiner Ansicht die in der Flüssigkeit äusserst fein vertheilten, nur scheinbar

gelösten Körperchen unter dem Einfluss gewisser Agentien zu Gruppen vereinigt, werden sichtbar und fallen aus. Der Grund hierfür ist eine Störung des Gleichgewichtszustandes zwischen den verschiedenen Molekularkräften und der Schwerkraft, vermuthlich ein Ueberwiegen der intermolekularen Anziehungskräfte.

Die Feststellung, dass das Serum von Thieren, welche mit Milch anderer Thierspecies injicirt waren, die Caseïntheilchen jener Milch zu „agglutiniren“ (richtiger zu „präcipitiren“) vermochte, veranlasste Bordet zur Annahme einer weitgehenden Analogie zwischen diesem Vorgang, dem der typischen Agglutination von Bakterien und Blutkörperchen und der Coagulation.

Nur unter der Annahme, dass für jede Zellenart, jedes Bacterium die molekularen Anziehungskräfte feststehen, erklärt sich, wie Neufeld (115) ausführt, das charakteristische Wachsthum dieser Bakterien in ihren flüssigen Nährsubstraten, sowie die bei einigen Zellen (Pneumokokken, Trypanosomen) durch specifisches Serum hervorgerufenen Lagerungseigenthümlichkeiten. Nach seiner Ansicht werden bei der Agglutination in den oberflächlichen Schichten der Bakterienzellen gewisse Veränderungen gesetzt (vielleicht Coagulation sonst flüssiger Zellbestandtheile), die vielleicht nur bei Pneumokokken sichtbare Quellung bewirken. Im Anschluss hieran treten dann tiefgreifende Aenderungen der physikalischen Eigenschaften der Mikroben auf: Es kommt zur sichtbaren Agglutination. —

Im Anschluss an die Bordet'schen Versuche wurde durch Joos (78, 79) die Rolle des Salzes bei der Agglutination in einer grösseren Untersuchungsreihe geprüft. In einer Mischung von Typhusbacillen und Typhusserum, die durch Dialyse von ihrem Salzgehalt befreit worden sind, kommt es zwar zur Bindung des Agglutinins, aber zu keiner sichtbaren Agglutination; erst auf Zusatz von Kochsalz tritt Agglutination ein. Da mit Kochsalz imprägnirte, auscentrifugirte Bacillen schon durch dialysirtes Serum agglutinirt werden, und da bei Zusatz verschiedener geringer Kochsalzmengen zu kochsalzfreien Bacillenserumemulsionen der entstehende Niederschlag dem Kochsalzzusatz proportional schien, glaubte Joos an eine chemische Bindung des Salzes im Agglutinat. Ueber die Beweiskraft der letzteren Versuche ist zwischen ihm und Friedberger (53, 54) eine lebhafte Discussion entstanden, die noch nicht völlig erledigt scheint. Ferner zeigte Joos, dass die Verbindung von agglutinirbarer Substanz und Agglutinin nicht nach einfachen Verhältnissen erfolgt, wie die Toxin-Antitoxinverbindung. Es trat vollkommene Agglutination einer bestimmten Bakterienmenge und völlige Absorption des Agglutinins auf bei Zusatz sehr verschiedener Serummengen. Je mehr Agglutinin gebunden wurde, desto stabiler schien die Verbindung zu sein. Joos be-

hauptet endlich, dass die Bindung des Agglutinins durch die agglutinirbare Substanz dem Gesetz der multiplen Proportionen folgt. Da er aber den Nachweis nicht führt, dass beide Körper sich nur in rationalen Verhältnissen vereinigen, so scheint es doch mit mehr Wahrscheinlichkeit sich hier um eine Art von Uebersättigung der agglutinirbaren Substanz mit dem Agglutinin zu handeln.

Nach den sehr eingehenden Untersuchungen von Eisenberg und Volk (42) (1902) dürfte es sich in der That um diese Verhältnisse handeln. Eine Uebersättigung der agglutinirbaren Substanz mit dem Agglutinin kann in sehr hohem Maasse stattfinden. Andererseits ist eine Erschöpfung einer gewissen Serumquantität nur möglich durch successiven Zusatz grösserer Bakterienmengen. Ob diese eigenthümlichen Bindungsverhältnisse in der That, wie Bordet meint, der Farbstoffbindung analog sind, also den Charakter einer Oberflächen-Adsorptionswirkung tragen, oder ob sie in den Rahmen unvollkommener Reactionen fallen und durch das Gesetz der Massenwirkung chemisch umsetzbarer Körper sich erklären, kann wohl erst in Zukunft entschieden werden.

Von grosser theoretischer Bedeutung war die Entdeckung von Eisenberg und Volk, dass durch gewisse Schädlichkeiten (Erhitzung auf 100° C. u. s. w.) beeinflusste Bakterien Agglutinine noch binden, aber nicht mehr agglutinirt werden. Sie schlossen hieraus auf das Vorhandensein einer thermostabilen bindenden und einer thermolabilen fällbaren Gruppe an der agglutinirbaren Substanz. Die fernere Erfahrung, dass ein durch Einwirkung von höheren Temperaturen, Salzen, Säuren, Alkalien u. a. geschädigtes Serum Typhusbacillen inagglutinabel macht, selbst bei Anwesenheit relativ grosser Mengen unveränderten Agglutinins, berechtigte zu folgendem Schluss: Auch am Agglutininmolekül ist eine bindende und eine fällende Gruppe vorhanden. Nach Zerstörung letzterer bleibt der Rest, das „Agglutinoid", übrig, welches eine grössere Affinität als das unveränderte Agglutinin zur agglutinirbaren Substanz besitzt. Das Agglutinoid wird also gebunden und dadurch der Bacillus vor der Agglutininwirkung behütet.

Die Ergebnisse gleichzeitiger Arbeiten Bail's (6) (1902) sind im Wesentlichen dieselben, wie die von Eisenberg und Volk. Bail ging aus von der sehr geringen Agglutinirbarkeit von Typhusbacillen, die frisch aus dem Peritonealexsudat eines mit Typhus inficirten Meerschweinchens gewonnen sind. Im Verlauf seiner Untersuchungen fand er (wie schon Ransom und Kitashima (143) (1898) bei Choleravibrionen), dass im Immunserum gezüchtete Typhusbacillen theilweise inagglutinabel werden. Dasselbe wurde wenigstens bei einigen Bakterienindividuen gefunden, wenn man einen auch nur geringen Bakterienüberschuss zu einer Immunserum-

verdünnung zusetzte, oder wenn man die Bakterien mit einem auf 75° C. erhitzt gewesenen, daher nicht mehr agglutinirenden specifischen Serum behandelte. Bail kam zu der Vermuthung, dass das Bacterium unverändertes Agglutinin nicht mehr aufnehmen könnte, weil seine bindenden Gruppen schon besetzt wären durch eine andere Substanz, wahrscheinlich ein verändertes, unwirksam gewordenes Agglutinin.

In der Ehrlich'schen Theorie, welcher sich Eisenberg und Volk in der oben wiedergegebenen Deutung ihrer Versuche angeschlossen haben, werden die Agglutinine als Receptoren zweiter Ordnung aufgefasst, d. h. sie werden ausgestattet gedacht mit einer haptophoren Gruppe, welche die Bindung mit der agglutinirbaren Substanz vermittelt, und einer zymophoren Gruppe, welche die Agglutination hervorruft. Wenn das richtig ist, so bliebe nach Zerstörung der zymophoren Gruppe (z. B. durch Erhitzen des Serums auf 75° C.) nur der bindende Rest des Receptors übrig. Auf Grund dieser Anschauung würde nach Bail eine nachträgliche Agglutination der mit dem erwähnten Agglutininrest vorbehandelten Bakterien schwer erklärbar sein.

Nun gelang es aber Bail in der That, durch ein eigenartig wirkendes Serum die „Exsudatbakterien" zu agglutiniren. Ferner waren manche normale Meerschweinchensera fähig, die inagglutinablen Bakterien nachträglich zu Haufen zu vereinigen. Bail glaubte daher, dass, ähnlich den Cytotoxinen, auch die Agglutinine Receptoren dritter Ordnung, zusammengesetzt aus einer Art von Amboceptoren und Complementen, wären. Der Amboceptor („Agglutinophor") wäre streng specifisch und noch bei 75° C. haltbar; das Complement („Hemiagglutinin") käme auch in gewissen normalen Seris vor, wäre nicht specifisch und würde bei 60° C. zerstört. Nach dieser Theorie würden also die Hemiagglutinine durch Vermittelung der Agglutinophore an das Bacterium gebunden, und entfalteten erst dann ihre eigenartige Wirkung auf dasselbe. Erst in Folge hiervon träten die physikalischen Veränderungen ein, welche das sichtbare Bild der Agglutination bedingten.

Während die bisher mitgetheilten Theorieen davon ausgehen, dass die Agglutinine specifische Substanzen sind, welche bei der Passage der Mikroben durch den Thierkörper erst in letzterem entstehen, behaupten Emmerich und Löw (44, 45, 46, 99) die Bildung dieser Substanzen im Bacterium selber. Sie beobachteten in alten Pyocyaneus-Bouillonculturen schleimige Bacillenhaufen und erzeugten ähnliche Anhäufungen durch Zusatz der bakteriolytischen Enzyme des Pyocyaneus. Aus einer grösseren Zahl ähnlicher Befunde schlossen sie, dass allgemein sich in Bakterienculturen Enzyme bildeten, welche in schwächeren Dosen die Bakterien agglutinirten, in grösseren Quantitäten sie zum schleimigen Zerfall brächten.

Nur eine ähnliche Beobachtung über Agglutination von Bakterien durch Culturfiltrate der gleichen Art ist von Malvoz (105) bei dem selbst in gewöhnlicher Bouillon leicht agglutinirbaren ersten Vaccin Milzbrand gemacht worden. Bei den Emmerich'schen Befunden aber scheint es sich nach Paul Th. Müller (112, 113) nicht um eigentliche Agglutination zu handeln. Wenigstens ist es Letzterem bei seinen sorgfältigen Nachprüfungen nie gelungen, das typische Bild derselben auf diese Weise zu erhalten; vielmehr kommt es zu einer schleimigen Umwandlung bei Anfangs gut erhaltener Beweglichkeit der Bakterien.

Dass auch chemisch definirbare Substanzen eine mehr oder weniger charakteristische Agglutination bewirken können, wurde von mehreren Forschern gezeigt. Es sind dies meist Körper, welche eine stärkere Schädigung der Bakterienzelle hervorrufen und in ihrer Wirkung eine weit geringere Specificität zeigen, als die bekannten Serumagglutinine. Wir erwähnen die Versuche von Blachstein (11) mit Chrysoidin, von Engels (47) mit Vesuvin, Malachitgrün und Saffranin, von Malvoz (104) und Bossaert (18) mit Desinficientien, wie Formol, Sublimat, Alkohol, Wasserstoffsuperoxyd, Essigsäure, Milchsäure, sowie mit Fuchsin, von Altobelli und Memmo (3) mit Säuren, Alkalien, Schwermetallchlorüren.

Ausgehend von der Thatsache, dass das Serum Ikterischer häufig den Typhusbacillus relativ hoch agglutinirt, versuchte Köhler (87) mit Erfolg ein gegen Typhus wirksames Serum zu erhalten, indem er bei Hunden den Ductus choledochus unterband, oder ihnen Taurocholsäure injicirte.

Alle diese vom Grundprincip mehr oder minder abweichenden Erfahrungen sind vereinzelt geblieben und haben die Theorie von der Specificität der Agglutination kaum erschüttert. Von viel grösserer Bedeutung war die schon frühzeitig gemachte Beobachtung, dass auch manche normale Sera in mässiger Verdünnung wirksam sind. Die Identität der Agglutinine normaler und specifischer Sera ist wahrscheinlich. Bordet (17) (1899) konnte in einem gegen Cholera- und Typhusbakterien wirksamen normalen Pferdeserum nach Absättigung mit dem einen Mikroben das Agglutinationsvermögen gegen den anderen unverändert nachweisen. Gleiche Erfahrungen hatte Malkoff (103) (1900) mit einem gegen mehrere Blutarten wirksamen Normalziegenserum.

Dagegen fanden Landsteiner und Sturli (94) (1902), dass ein gegen eine Blutart erschöpftes Normalserum einige Blutarten noch agglutinirte, andere nicht mehr. Sie zogen hieraus den Schluss, gegen welchen sich vielleicht noch manche Einwände erheben liessen, dass im Normalserum ein einheitliches Agglutinin vorhanden wäre, und dass die Erythrocyten bei ihrer Agglutination an das Serum eine specifische, agglutinationshemmende Substanz abgäben.

Weitere Erfahrungen müssen lehren, ob diese Schlussfolgerungen allgemein gültig sind. Bisher scheint die Anschauung Ehrlich's alle sonst bekannten Erscheinungen am besten zu erklären. Nach ihr sind in der Regel schon im normalen Serum eine Reihe verschiedener Antikörper vorhanden. Nach Injection specifischer Substanzen kommt es zur vermehrten Bildung specifischer Receptoren. Es beständen demnach nur quantitative, nicht principielle Unterschiede zwischen normalem und Immunserum. —

Wie aus den obigen Ausführungen hervorgeht, haben unsere Anschauungen vom Wesen und der Bedeutung der Agglutinationsreaction in den seit ihrer Entdeckung verflossenen 7 Jahren manche Wandelung durchgemacht.

Auf die ersten Gruber'schen Veröffentlichungen war eine Epoche enthusiastischen Agglutinirens gefolgt. Was bisher dem Bakteriologen, dem Kliniker als das Allerwichtigste erschienen war, die Unterscheidung nahestehender Mikroben, äusserst ähnlicher Krankheitsbilder, das schien durch die neue Serodiagnostik spielend gelöst. Indessen die Widersprüche blieben nicht aus. Es zeigten sich Unsicherheiten und andere Mängel der Methode. Die Specificität der Reaction wurde von vielen Seiten in Frage gestellt, und erst allmählich klärte sich die Sachlage so, dass man die zur Ausübung der Methode erforderlichen Vorsichtsmaassregeln kennen lernte. Die grösste Zahl von Beobachtungen hat die Serodiagnostik der Typhuserkrankung des Menschen, die „Gruber'sche Methode", zum Gegenstand.

Es muss betont werden, dass schon Gruber (59) in seiner ersten Veröffentlichung eine absolute Specificität der Agglutinationsreaction bezweifelt, und neben anderen nothwendigen Cautelen eine stete Controle durch Normalserum verlangt hatte. Widal (164) glaubte zunächst mit einer zehnfachen Verdünnung der Sera seiner Typhuskranken auszukommen. Grünbaum (64) forderte schon eine 30-, Stern (156) eine 50-fache Verdünnung. Man hat im Laufe der letzten Jahre gefunden, dass bei diesen Concentrationen noch mancherlei nicht specifische Nebenwirkungen auftreten können. Man ist daher mit den Anforderungen an die Verdünnung, bei welcher ein fragliches Serum Typhusbacillen noch agglutiniren muss, immer weiter gestiegen.

Die Unterscheidung zwischen dem Typhusbacillus und gewissen sehr nahe stehenden Coliarten ist nach den Beobachtungen von Beco (7), Rodet (146), Köhler und Scheffler (86) sehr schwer, wenn nicht unmöglich.

In der That sollen zwischen echten Typhusbacillen verschiedener Provenienz grössere Differenzen bezüglich des agglutinatorischen Verhaltens festgestellt sein, als zwischen einem Typhusstamm und einzelnen Coli-

rassen. Nach den bislang vorliegenden Untersuchungen dürfte die Annahme gerechtfertigt scheinen, dass eine Nachprüfung unter genauer Berücksichtigung der Controle und etwaiger Virulenzunterschiede diese Unklarheiten beseitigen würde.

Durch eine Reihe wichtiger Arbeiten, unter denen in erster Linie die Untersuchungen von Pfaundler (126), S. Wolf (167), Rodet (146), Radziewsky (142), Jatta (77) und Rothberger (148) über die Agglutination vieler verschiedener Stämme der grossen Familie der Colibakterien zu nennen sind, hat sich die folgende wichtige Thatsache ergeben: mit dem steigenden Agglutinationswerth eines Serums und der dadurch ermöglichten Verwendung höherer Verdünnungen sinkt die Zahl der durch dasselbe agglutinirten Mikroben immer mehr. Am intensivsten wird in der Regel beeinflusst der zur Gewinnung des Serums verwendete Stamm, nur wenig schwächer seine näheren Verwandten. Erst bei wesentlich stärkeren Concentrationen wird noch Agglutination fernerstehender Bakterien beobachtet.

Nur zuweilen fand man, dass nach häufigen Injectionen eines Mikroben das Serum der Versuchsthiere manche anscheinend fernerstehende Bakterien fast ebenso stark agglutinirte, wie den homologen Stamm. So theilt Beco (7) die auffällige Beobachtung mit, dass die Differenzirung einer Colirasse vom Typhusbacillus durch ein 10000fach verdünntes Typhusserum nicht und erst bei 100000facher Verdünnung mit Sicherheit gelungen ist.

In einem ähnlichen Falle von Agglutinirbarkeit zweier nicht sehr nahe verwandter Bakterien durch hohe Verdünnungen eines specifischen Serums fand Castellani (25), dass nach Absättigung der Agglutinine mit dem einen Mikroben auch der andere vom Serum nicht mehr beeinflusst wurde, dass also hier wahrscheinlich die Agglutination beider Stämme durch das gleiche Agglutinin bewirkt wurde. Dies Ergebniss wurde nicht gefunden bei Verwendung eines Serums, das durch gleichzeitige Injection beider Mikroben gewonnen war.

Es würden diese recht complicirten Verhältnisse vielleicht dem Verständniss etwas näher gerückt werden, wenn wir nach dem Vorgange Ehrlich's für jedes Bacterium eine Vielheit von Agglutininen annehmen. —

Mit wenigen Worten müssen wir noch eingehen auf die Beeinflussung der Agglutination durch die Virulenz des untersuchten Bacteriums; denn gerade hierdurch lassen sich, wie oben angedeutet, einige der recht auffallenden Widersprüche mancher Autoren ungezwungen erklären.

Schon in Pfeiffer's (135) ersten Veröffentlichungen wurde mitgetheilt, dass seine hochvirulente Choleracultur 100 Mal schwächer agglutinirt würde, als eine alte, ganz avirulent gewordene Laboratoriumscholera. Eine ähnliche Beobachtung will Rodet (146) bei einer Coliart gemacht

haben. So bedeutende Unterschiede, wie sie in diesem extremen Falle von Pfeiffer festgestellt wurden, scheinen freilich in der Folgezeit nicht wieder beobachtet worden zu sein. Aber ein gewisser Einfluss der Virulenz eines Vibrio auf seine Agglutinirbarkeit ist entschieden festgestellt, wie auch Dunbar constatirt hat. Nachdem Pfeiffer die Hypothese aufgestellt hatte, dass ein virulenter Vibrio eine entsprechend grössere Zahl specifischer Amboceptoren zu binden vermag als ein avirulenter, muss die Frage aufgeworfen werden, ob nicht auch für die Agglutinine ähnliche Verhältnisse vorliegen könnten.

Wir wollen aber nicht unerwähnt lassen, dass Neufeld (115) die oben angeführte, eigenartige Reaction der Pneumokokken auf ihr specifisches Serum nur bei Verwendung virulenter, frisch aus dem Thiere gewonnener Stämme beobachtet haben will. Sollte sich dies bestätigen, so würden wir vor einem Widerspruch stehen, der sich zunächst nicht gut erklären liesse. — Für die Choleravibrionen und deren Verwandte ist aber durch die oben erwähnten Befunde bei erhöhter Virulenz eine Abnahme der Agglutinirbarkeit sicher bewiesen.

III. Eigene Versuche.

Wie im Vorstehenden gezeigt wurde, gelingt heutzutage eine sichere Unterscheidung nahe verwandter und daher morphologisch und culturell noch nicht differenzirbarer Mikroben nur durch die beiden biologischen Methoden, deren Entdeckung für die Wissenschaft von höchster Bedeutung gewesen ist, den Pfeiffer'schen Versuch und die Agglutination.

Zwar wird man in gewissen Ausnahmefällen eine endgültige Entscheidung erst durch den Pfeiffer'schen Versuch treffen können. Praktisch aber steht die Agglutinationsmethode im Vordergrund wegen ihrer einfachen Ausführbahrkeit und kaum geringeren Zuverlässigkeit. Es liegt auf der Hand, dass diese Methode berufen ist, eine wichtige Rolle zu spielen bei der Differentialdiagnose der Vibrionen, deren Unterscheidung vom Choleravibrio Schwierigkeiten bereitet.

Im Hamburger Institut wurde bald nach dem Erscheinen der ersten diesbezüglichen Veröffentlichungen die Sammlung der Choleravibrionen und der bis dahin aus Wasser isolirten Vibrionen auf ihre Agglutinirbarkeit gegen Choleraserum geprüft. In Bestätigung der früheren, mit dem Pfeiffer'schen Versuch gewonnenen Ergebnisse fand man bei Choleravibrionen durchweg eine positive Reaction, während die Mehrzahl der Wasservibrionen selbst durch starke Concentrationen (1 : 20) des Choleraserums nicht beeinflusst wurden. Nur die in der Tabelle Nr. II erwähnten Vibrionen reagirten deutlich positiv und mussten nach damaligen Erfahrungen als Choleravibrionen aufgefasst werden.

Im Anschluss hieran und in weiterer Verfolgung der schon erwähnten, nach der Pfeiffer'schen Methode angestellten vorläufigen Versuche wurden von Dunbar und Vogel in den Jahren 1896 und 1897 ausgedehnte Versuche zur Gruppirung der choleraähnlichen Vibrionen mit Hülfe der Agglutinationsmethode in Angriff genommen. Es gelang damals die Abscheidung von 6 Gruppen, welche bei den verwendeten Serumverdünnungen (1:50 bis 1:200) eine gegenseitige Beeinflussung nicht zeigten. Die ganz ungemein umfangreiche Arbeit konnte aus äusseren Gründen nicht zu einem befriedigenden Abschluss gebracht werden. Ich habe im Herbst 1902 die Aufgabe übernommen, die Vibrionensammlung des Instituts einer erneuten eingehenden Prüfung zu unterwerfen.

Von den im Ganzen seit 1893 isolirten 389 Wasservibrionen habe ich zu den nachstehend beschriebenen Untersuchungen 165 herangezogen. Die übrigen waren leider inzwischen zu Grunde gegangen.

Nach sorgfältiger Controle der Reinheit wurde bei jedem Stamm Rothreaction und Phosphorescenz geprüft. Mit Ausnahme von vier Stämmen zeigten alle typische Nitrosoindolreaction. Phosphorescenz wurde zur Zeit beobachtet bei 57, nicht beobachtet bei 108 Culturen. Von letzteren war nur bei 37 Stämmen früher ein Leuchten festgestellt worden. Diese Untersuchungen wurden stets in der Dunkelkammer an ca. 10- bis 12stündigen Agarculturen vorgenommen und ein abschliessendes Urtheil erst nach 15 Minuten langer Adaption des Auges abgegeben.

Mit verschiedenen dieser Vibrionenstämme wurden Impfversuche an Kaninchen unternommen zwecks Gewinnung agglutinirender Sera. Es wurde zur Impfung jedes Mal eine gutgewachsene etwa 20stündige Agarcultur von ca. 10 qcm Oberfläche in 2 ccm 0·85procentiger steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch halbstündiges Erhitzen auf 58° C. im Wasserbad abgetödtet und von dieser Emulsion $^1/_2$ bis 2 ccm injicirt. Wir bedienten uns anfänglich der intraperitonealen, später mit viel besserem Erfolge der intravenösen Injection. Die Impfungen wurden alle 2 bis 7 Tage, je nach dem Wohlbefinden der Thiere, wiederholt. Der erreichte Agglutinationswerth der Sera wechselte sehr. Zuweilen stieg derselbe nach der dritten oder vierten Injection zu einer beträchtlichen Höhe empor, zuweilen gelang es nach 10 bis 20 Impfungen, selbst unter Verwendung lebender Culturen, nicht, ein brauchbares Serum zu gewinnen. Zur Prüfung des Agglutinationstiter wurde in gewissen Zeiträumen etwas Blut aus der Ohrvene entnommen. Die Gewinnung grösserer Mengen gelang auf diese Weise meist nicht, da sich im Anschluss an die Injectionen oft ausgedehnte Thrombosen der grösseren Ohrgefässe gebildet hatten. In solchen Fällen wurde unter Benutzung der üblichen Technik das Blut aus der Carotis entnommen. Sterilisirte, mit Watteropfen beiderseits

verschlossene Glasröhren von 3 cm Durchmesser werden in der Mitte zu Capillären ausgezogen und die letztere gegen die Axe des Rohres etwa rechtwinklich abgebogen. Die Carotis wird frei gelegt, peripher unterbunden, central mit einem Faden lose umschlungen. Die Spitze der Capillare wird alsdann centralwärts in das Gefäss eingestochen und nach Gewinnung einer genügenden Blutmenge die Arterie auch am proximalen Ende unterbunden, die Capillare herausgezogen und über kleinster Flamme zugeschmolzen. Die Röhre wird schräg gelegt und im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufgewahrt. Das nach 24 Stunden abgeschiedene Serum wird abgegossen und, wenn erforderlich, centrifugirt. Es bedarf kaum der Erwähnung, dass jede Erhitzung des Serums bei allen Manipulationen sorgfältig vermieden werden muss. Nach einiger Uebung gelang es meist leicht, auf diese Weise eine beträchtliche Quantität zu erhalten, ohne dass die Thiere bleibende Nachtheile zeigten. Neuerdings haben sich hier zum Zwecke der Blutentnahme noch besser konische Metallcanülen mit schräger scharfer Spitze bewährt, die nach Angabe von Herrn Professor Dunbar hergestellt sind. Werden diese in eine Ohrvene eingeführt, so fliesst das Blut, ohne Gerinnsel zu bilden, in das darunter befindliche Aufnahmegefäss in hinreichender Menge (bis zu 10 ccm) ab.

Die zur Agglutination nöthigen Verdünnungen des Serums wurden mit 0·85procentiger steriler Kochsalzlösung hergestellt. Da die Pipetten mit der Zeit durch das häufige Sterilisiren immer ungenauer werden, haben wir regelmässig auf chemischer Waage die zu benutzende Serummenge im Kölbchen bestimmt und den Zusatz der Verdünnungsflüssigkeit controlirt.

Wie bekannt, kann man die Agglutination mikroskopisch und makroskopisch beobachten. Bei Anwendung ersterer Untersuchungsmethode ist man im Stande, bei noch viel höheren Serumverdünnungen die Bildung von Häufchen zu beobachten. Dagegen kann man mit der makroskopischen Methode die Beobachtung mit weit geringerem Zeitverlust häufiger vornehmen und den Verlauf der Reaction über längere Zeit hinaus einwandsfrei verfolgen. Bei ihr kann ausserdem das werthvolle Kriterium der Klärung der Flüssigkeit beobachtet werden.

Es kommt hinzu, dass bei mehreren unserer Vibrionenculturen ein homogenes Wachsthum nicht erreicht werden konnte. Wir haben daher für die recht bedeutende Zahl von Agglutinationen, welche angestellt werden mussten (mehrere 1000 Versuche) ausschliesslich die makroskopische Beobachtung bei mässiger Loupenvergrösserung angewendet. Zu dem Zwecke wurden ausgesucht klare Reagensgläser von gewöhnlicher Grösse mit 4 procentiger Salzsäure, dann mehrmals mit destillirtem Wasser gründlich ausgebürstet, gespült und im Trockenschrank eine halbe Stunde

lang bei 100° C. erhitzt. Die so vorbereiteten Röhrchen wurden mit der zur Agglutination dienenden Serumverdünnung beschickt.

Zur Reaction wurden 10- bis 20stündige gut bewachsene Agarculturen verwendet. Da das Verhältniss der Bakterienmengen zum Agglutinin nicht ohne Einfluss auf den Gang der Reaction ist, wurde die Culturmasse stets mit der gleichen, ca. 2 ^{mg} fassenden, plattgehämmerten Oese (unter Vermeidung des Condenswassers) entnommen und in 1 ^{ccm} der Serumverdünnung vertheilt. Zu dem Zwecke wurde die Culturmasse an der Wand des Glases sorgfältig verrieben und allmählich mit der Serumverdünnung heruntergespült. Die Verreibung dauerte etwa $^1/_2$ Minute.

Bei der Beobachtung wurde unter genauer Berücksichtigung der zeitlichen Verhältnisse festgestellt:

1. Das erste Auftreten feiner Flöckchen („Beginn der Agglutination"),

2. die Bildung grösserer Flocken, zwischen denen die Flüssigkeit klar erscheint („Vollendung der Agglutination"), und

3. die völlige Absetzung der Flocken am Boden des Gefässes („Vollendete Klärung der Flüssigkeit").

Nach 24 Stunden wurde die Beobachtung abgeschlossen. Jede positive oder zweifelhafte Reaction wurde sofort mit dem 1:100 verdünnten Serum des Normalkaninchens verglichen (Controle).

Die Reaction geht am besten bei höherer und constanter Temperatur von Statten. Es wurden daher die Gläschen mit den Emulsionen im Brütschrank bei 37° C. aufbewahrt und nur zur jedesmaligen Beobachtung herausgenommen.

Die Ausführung der Reaction wird nun durch mancherlei Umstände erschwert, welche ich nicht unerwähnt lassen will. Eine wichtige Rolle spielt jedenfalls das Alter des Stammes (der seit seiner Isolirung verflossene Zeitraum) und etwaige, dadurch bedingte Schwankungen in seiner Virulenz. Die hierdurch bedingten Schwankungen in der Agglutinirbarkeit der betreffenden Vibrionenstämme scheinen sich indessen innerhalb mässiger Grenzen zu halten.

Zur Anstellung vergleichender Untersuchungen mussten nun naturgemäss die quantitativen Verhältnisse sorgfältig berücksichtigt werden. Um einheitlich vorzugehen, haben wir uns zu der nachstehend angegebenen Aufstellung einer willkürlichen Reactionsgrenze verständigt. Wir haben in unseren Versuchen als positive Agglutination eine Reaction bezeichnet, bei welcher innerhalb von 10 Minuten ein deutlicher Beginn der Haufenbildung (s. o. 1.), bald danach die Vollendung derselben (s. o. 2.) beobachtet wird, und bei welcher die Klärung der Flüssigkeit (s. o. 3.)

nach wenigen Stunden sich vollzogen hat und bis nach 24 Stunden bestehen bleibt; die mit Normalserum 1:100 angesetzte Controle muss dauernd homogen bleiben.

Nach derselben Norm bezeichnen wir als Titer des Serums die höchste Verdünnung desselben, in welcher der „homologe" (zur Gewinnung des Serums verwendete) Vibrio noch innerhalb von 10 Minuten eine deutlich positive Reaction zeigt. Hierzu ist zu bemerken, dass wir durch die oben angegebene, zur Vornahme einer strengen Gruppirung nöthig erscheinende Beschränkung gezwungen waren, relativ starke Serumconcentrationen zu verwenden, während eine gewisse Beeinflussung noch in viel höheren Verdünnungen erkennbar war. Selbst bei einer Verdünnung, welche die durch die Titerzahl angegebene um das Zwei- bis Dreifache übertrifft, beobachtet man innerhalb 2 Stunden auftretende Agglutination, die nach 24 Stunden zur Klärung der Flüssigkeit führen kann. Weit höhere Zahlen für die Werthigkeit des Serums würden sich ergeben, wenn wir nach dem Vorgang einiger Autoren die Bildung von makroskopisch sichtbaren Flocken in noch trüber Flüssigkeit als Agglutination bezeichnet, oder wenn wir gar die vielfach übliche mikroskopische Methode verwendet hätten.

Da in der Regel der zur Gewinnung des Serums verwendete Stamm von diesem Serum intensiver beeinflusst wird, als sämmtliche anderen Zugehörigen seiner Gruppe, so haben wir für die Versuche der Gruppirung unserer Vibrionen meist die doppelte Concentration der durch den Titer angegebenen Verdünnung des Serums verwendet.

Bei unseren Versuchen hat sich, in Bestätigung früherer Arbeiten, ergeben, dass bei Verwendung hochwerthiger, entsprechend stark ververdünnter Sera (1:500, 1:1000 und darüber) die Versuchsergebnisse viel klarer und eindeutiger sind, als bei geringwerthigen. Leider war es aber nothwendig, auch einige der letzteren Sera zu benutzen. Mit diesen ist es uns vielfach nicht gelungen, zu absolut sicheren Schlüssen zu kommen. Indessen schien es doch meist richtig, die Stämme, welche durch diese Sera typisch agglutinirt, dagegen vom 1:100 verdünnten Normalserum und mehreren anderen Vibrionenseris nicht beeinflusst wurden, einer Gruppe zuzurechnen.

Bei einigen Vibrionen machte die homogene Emulgirung grosse Schwierigkeiten. Drei von diesen, welche in ihren übrigen Eigenschaften grosse Aehnlichkeit mit Choleravibrionen zeigten, wuchsen auf Agar in der Form einer harten Einlagerung, die mit der Platinöse sich nur mühsam und nicht ohne Verletzung der Nährbodenoberfläche abkratzen liess. Bei einem Vibrio (Nr. 344), der diese Eigenschaft in weniger hohem Grade zeigte, gelang trotzdem die Einreihung in eine Gruppe. Die

anderen mussten, als zu Agglutinationsversuchen nicht geeignet, von diesen ausgeschlossen werden.

Weitere Schwierigkeiten bereiteten einige Vibrionen, welche grosse Neigung zeigten, auch in der Controle agglutinirt zu werden. Bei zweien von diesen (Nr. 368 u. 478) fand sich indessen eine noch intensivere Beeinflussung in einem stärker verdünnten specifischen Serum, so dass ihre Angehörigkeit zu der betreffenden Gruppe, wenn auch nicht sichergestellt, so doch recht wahrscheinlich gemacht wurde. Vgl. S. 53.

Bei einigen anderen Stämmen, deren Wachsthum auf Agar zunächst völlig normal schien, gelang es öfter nicht, die Culturen zwecks Vornahme der Agglutinationsreaction an der Wand des Glases zu verreiben. Es erschienen sofort in der zu prüfenden Serumverdünnung und in der Controle unregelmässige, verschieden grosse Haufen, die anfänglich eine sehr intensive Agglutination vortäuschten. Schon nach wenigen Minuten jedoch beobachtete man eine leichte, rasch zunehmende Trübung der Flüssigkeit und zugleich ein allmähliches Verschwinden der Häufchen; von der zweiten Stunde ab war die Emulsion homogen oder enthielt nur noch einzelne Flocken. Es waren daher auch diese Stämme verwendbar, da die Controle sich bald trübte, während ein nachträglicher Einfluss des specifischen Serums sich gut erkennen liess. — Diese recht störende Haufenbildung, die offenbar mit der Agglutination nichts zu thun hat, tritt bei einzelnen Stämmen besonders häufig auf und scheint auf einer zu geringen Alkalescenz des Nährbodens zu beruhen. Wie schon Valagussa (159) beobachtet hat, beeinflussen reichlicher Fettgehalt und Mangel an Nährstoffen im Agar die Agglutinirbarkeit der Bakterien in hohem Maasse.

Nach diesen einleitenden Bemerkungen mag nunmehr auf die Ergebnisse meiner oben angekündigten Versuche eingegangen werden.

Durch die Agglutinationsmethode liess sich zunächst feststellen, dass eine gewisse Zahl von Wasservibrionen den Choleravibrionen zuzurechnen ist. Des Weiteren ist es gelungen, diejenigen Vibrionenculturen, welche sich als der Cholera nicht zugehörig erwiesen haben, in eine Reihe verschiedener Gruppen einzuordnen. Es mag zunächst die Beschreibung der letzterwähnten Gruppen folgen, deren Aufstellung den grössten Aufwand von Zeit und Mühe verursachte.

Zunächst wurde durch Behandlung eines Kaninchens mit dem intensiv leuchtenden 1893er Vibrio Nr. 250 ein Serum gewonnen, das eine grosse Zahl von Vibrionen agglutinirte. Aus dem Rest der hierdurch nicht beeinflussten Vibrionen wurde ein Stamm (Nr. 248) zur Gewinnung eines zweiten Serums ausgewählt, und gegen dieses Serum die nicht der ersten Gruppe eingereihten Vibrionen und zur Controle einzelne Angehörige der ersten Gruppe agglutinirt. In dieser Weise fortfahrend, konnten wir im

Ganzen 11 Gruppen ausscheiden, über welche in der Tabelle IV einige orientirende Angaben folgen.

Nach Aufstellung dieser 11 Gruppen war ein Rest von 35 Stämmen übrig geblieben, welche durch keines der verwendeten Sera beeinflusst wurden.[1] Da es nach ausgeführten Vorversuchen wahrscheinlich war, dass auch dieser Rest nicht in eine, sondern in zahlreiche Untergruppen aufzulösen wäre, deren Bestimmung naturgemäss sehr zeitraubend ist, so habe ich mich aus äusseren Gründen entschliessen müssen, mit den oben angedeuteten Versuchen abzuschliessen.

Tabelle IV.

Gruppe Nr.	Gruppenrepräsentant: Vibrio Nr.	Gruppenrepräsentant: Sein Leuchtvermögen	Titer des Serums	Verdünnung, welche zur Prüfung verwandt wurde	Zahl der Angehörigen d. Gruppe (sicher pos. Agglutination): leuchtende	nicht leuchtende	zusammen
I	250	leuchtd.	1 : 2000	1 : 500	53	1	54
II	248	früher leuchtend	1 : 500	1 : 200	3	6	9
III	280	„	1 : 500	1 : 500	2	—	2
IV	361	n. leuchtd.	1 : 2000	1 : 1000	1	5	6
V	334	früher leuchtend	1 : 1000	1 : 500	7	18	25
VI	262	leuchtd.	1 : 1000	1 : 500	4	—	4
VII	437	n. leuchtd.	1 : 1000	1 : 500	—	1	1
VIII	396	„	1 : 500	1 : 200	—	4	4
IX	463	„	1 : 1000	1 : 500	—	1	1
X	266	„	1 : 200	1 : 100	—	5	5
XI	305	früher leuchtend	1 : 300	1 : 200	1	—	1
XII	Chol. Bombay	n. leuchtd.	1 : 2000	1 : 500	—	8	8

Wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich ist, kommen in mehreren Gruppen leuchtender Vibrionen auch einige Stämme vor, bei denen Phosphorescenz nicht beobachtet worden ist. Diese zunächst auffällige Erscheinung kann uns indessen nicht irre machen an der Auffassung der Phosphorescenz als eines wesentlichen Merkmals für die Kennzeichnung

[1] Zu diesem Rest gehörten auch die vier Stämme, welche weder Anfangs, noch später Rothreaction zeigten, und die von vornherein als wenig choleraähnlich aufgefasst wurden.

Gruppe

Serum aus Kan. Nr.	Titer	Z. Prüfung verwendete Verdünnung[1]	Vibrionen-Cultur Nr.	Leuchtvermögen	Fundort	Datum Isolir
37	1 : 2000	1 : 500	250	leuchtend	Zollenspieker b. Hamb.	1. VIII
			247	„	Neue Schöpfstelle Hamb.	19. VII.
			249	„	Gesammtfiltrat Hamb.	29. VII.
			251	„	Neuengamme b. Hamb.	1. VIII
			260	„	Leitung, Hamburg	19. VIII
			263	früher leuchtend	Leitung Hamburg	18. VIII
			264	„	Gesammtfiltrat Col. III	20. VIII
			265	nicht leuchtend	Gesammtfiltrat Col. IV	20. VIII
			269	leuchtend	Leitung Hamburg	23. VIII
			270	„	Vor der Werft v. Blohm & Voss, Hamburg	24. VIII
			275	„	Leitung Hamburg	4. IX.
			277	„	Orthkathen b. Hamb. I	11. IX.
			279	„	Spitze v. Kaltehofe Col. 1 b. Hamb.	11. IX.
			285	früher leuchtend	Schnellfilter Hamb.	18. IX.
			288	leuchtend	Gustavstr. 1 Hamb.	27. IX.
			291	„	Naumburg	29. IX.
			294	„	Ablagerungsbassin III Hamburg	30. IX.
			295	„	Leitung Hamburg	30. IX.
			296	„	Elbe b. Dresden	30. IX.
			297	„	Magdeburg, Elbe	20. IX.
			298	„	Wittenberge	30. IX.
			300	„	Niedernstr. 91 Hamb.	2. X.
			304	„	Moorwerder b. Hamb.	6. X.
			312	„	Gesammtfiltrat Hamburg	10. X.
			313	„	Ablagerungsbassin III Hamburg	14. X.
			324	„	Schnellfilter Hamb.	24. X.
			325	„	Ablagerungsbassin III Hamburg	30. X.
			326	„	Leitung Hamburg	31. X.
			327	„	Neue Schöpfstelle Hamb.	31. X.
			343	„	Kaltehofe b. Hamb.	22. VIII.
			344	„	Mitte d. Elbstroms b. d. Doveelbe	19. VIII
			345	„	Schweinestall b. d. Kirche v. Curslak b. Hamb.	21. VIII.

[1] Die bei dem ersten Gruppenrepräsentant (Nr. 250) angegebene Serumverdünnu wurde auch für die folgenden Prüfungen verwendet.

abelle V.

gglutination innt ch:	vollend. nach:	Klärung vollend. nach:	Verhalten nach 24 h	Controle Norm.-Ser. 1 : 100	Ergebniss	Bemerkungen
Min.	2 Min.	2 Std.	geklärt	homogen	+	*)
„	2 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	fast geklärt	„	+	
„	5 „	2 „	geklärt	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	erst agglut., von $^1/_2$ h ab Trübung, nach 1 h homogen	+	
„	10 „	2 „	„	homogen	+	
„	40 „	12 „	„	„	+	
„	30 „	12 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	15 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	15 „	2 „	„	„	+	
„	2 „	1 „	„	„	+	
„	10 „	30 Min.	„	zuerst Körnch., spät. zunehm. Trübg., nach 2 h homogen	+	
„	3 „	1 Std.	„	homogen	+	
fort	5 „	2 „	„	sofort körnig, bald zunehm. Trübg., v. 1 h ab fast homog.	+	
„	30 „	12 „	„	homogen	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	1 „	„	„	+	
„	15 „	2 „	„		+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	1 „	„	„	+	
„	3 „	1 „	„	„	+	
„	15 „	12 „	fast geklärt	„	+	
„	10 „	2 „	geklärt	„	+	

*) Dieser Vibrio wurde zur Herstellung des Serums verwendet.

Gruppe I. (Fortsetzung)

Serum aus Kan. Nr.	Titer	Z. Prüfung verwendete Verdünnung	Vibrionen Cultur Nr.	Leuchtvermögen	Fundort	Datum der Isolirung
37	1 : 2000	1 : 500	347	leuchtend	Schweinestall b. Wirt an d. Allermöher Brücke	21. VIII.
			349	„	Doveelbe	21. VIII.
			351	„	Elbe b. Kaltehofe b. Hamb.	21. VIII.
			354	„	Elbe, 100 m v. Ponton Teufelsbrück nahe Hamb.	26. VIII.
			357	„	Elbe b. Kaltehofe	4. IX.
			358	„	Elbe b. Kaltehofe	3. IX.
			359	früher leuchtend	Elbe b. Kaltehofe	25. VIII.
			369	leuchtend	Schweinestall, Seefeld, Haus 465, Col. a	11. IX.
			370	„	Schweinestall, Seefeld, Haus 440	11. IX.
			372	„	Schweinestall, Haus vor d. Fähre n. Reitbrook	11. IX.
			373	„	Elbe, Dock Wichhorst in Altona, 100 m v. r. Ufer	9. IX.
			374	„	Schweinestall, Haus vor d. Fähre n. Reitbrook	11. IX.
			377	„	Elbe, Dock Wichhorst in Altona, 40 m v. r. Ufer Col. b	9. IX.
			378	„	Elbe, Dock Wichhorst in Altona, 40 m v. r. Ufer Col. a	9. IX.
			381	„	Elbe b. Spadenland	5. IX.
			386	„	Elbe, Pagen-Feuer	14. IX.
			389	„	Elbe, in Höhe v. Tonne 7, (kurz v. Twielenfleth), Col. a	14. IX.
			390	„	Elbe, in Höhe v. Tonne 7, (kurz v. Twielenfleth), Col. b	14. IX.
			393	„	Elbe v. Süllberg, Blankenese	14. IX.
			399	„	Elbe, Tonne b. Hagelt	23. IX.
			405	„	Elbe, zw. Tespe u. Arendorf	23. IX.
			406	„	Elbe, Forst Grünhof	23. IX.
			408	„	Elbe b. Lauenburg	23. IX.
			494	„	Elbe	1898
			252	leuchtend	Tlg. zw. Norder- u. Süderelbe	1. VIII.
			262	„	Neue Schöpfstelle Hamb.	19. VIII.
			281	„	Spitze v. Kaltehofe, Col. 3 b. Hamb.	11. IX.
			305	früher leuchtend	Neue Schöpfst. Col. 1, Hamb.	6. X.
			375	nicht leuchtend	Elbe 70 m v. d. Köhlbrandmündung, 70 m v. l. Ufer, unterh. v. Hambg.	9. IX.
			473	leuchtend	Elbe b. Hamb. St. Pauli Fischmarkt	13. IX.

belle V. (Fortsetzung.)

glutination nnt h:	vollend. nach:	Klärung vollend. nach:	Verhalten nach 24h	Controle Norm.-Ser. 1 : 100	Ergebniss	Bemerkungen
lin.	10 Min.	2 Std.	geklärt	homogen	+	
„	2 „	3 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	3 „	„	„	+	
„	8 „	12 „	„	„	+	
„	10 „	3 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	12 „	fast geklärt, leichte beginnd. Trübg.	„	+	
„	5 „	2 „	geklärt	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	8 „	2 „	fast geklärt, leichte beginnende Trübg.	„	+	
„	5 „	2 „	geklärt	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	7 „	2 „	„	„	+	
„	15 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	3 „	„	„	+	
„	5 „	3 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	1 „	ziemlich klar	„	+	
in.	30 Min.	2 Std.	geklärt	homogen	(+)	*)
„	30 „	3 „	„	„	(+)	
td.	2 Std.	12 „	„	„	(+)	
in.	45 Min.	2 „	„	„	(+)	
„	30 „	2 „	„	„	(+)	
„	1 Std.	12 „	„	„	(+)	

*) Das Zeichen (+) bedeutet, dass diese Vibrionen durch das in Frage stehende Serum vach beeinflusst wurden. Die Reaction war aber nicht ausgesprochen genug, um tiv genannt zu werden.

und Classificirung der Vibrionen. Denn, wie schon früher ausgeführt, zeigen viele anfänglich phosphorescirende Vibrionen diese Eigenschaft später nur mehr oder weniger inconstant. Es ist daher nicht unmöglich, dass manche der von uns als „nicht leuchtend" bezeichneten Stämme zuerst noch geleuchtet, aber diese Eigenschaft nach kurzem Aufenthalt auf künstlichen Nährboden so früh verloren haben, dass dieselbe nicht mehr hat festgestellt werden können, oder dass diese Stämme überhaupt auf den von uns verwendeten Nährboden nicht zu leuchten vermögen. Ich möchte die Frage unentschieden lassen, ob es nicht einmal gelingen wird, bei allen diesen fraglichen Stämmen Phosphorescenz wieder hervorzurufen.

Schon in der ersten Gruppe, deren Vertreter ein besonders stark leuchtender Vibrio ist, findet sich unter 54 Stämmen ein nichtleuchtender.

In vorstehender Tabelle V werden die positiven Reactionen unserer Vibrionen im ersten Gruppenserum wiedergegeben.

Aus der erwähnten Tabelle V ist ersichtlich, dass durch das Serum des Vibrio 250 zahlreiche (54) Stämme specifisch agglutinirt wurden. (In der Tabelle wurde für diese sicher positiven Reactionen das Zeichen + gewählt.) Etwas abweichend verhielten sich 6 Culturen, welche in der Tabelle durch einen Strich von den Vorhergehenden getrennt sind, und für welche das Ergebniss der Serumprüfung mit (+) bezeichnet ist. Da bei diesen Stämmen die Reaction erst wesentlich später eintrat als bei allen ersterwähnten Stämmen, so erschien ihre Angehörigkeit zur ersten Gruppe nicht wahrscheinlich. Um diese Frage zu entscheiden, habe ich mit zweien von diesen Stämmen (Nr. 262 und 305) Thiere geimpft. Obwohl die Prüfung der auf diese Weise gewonnenen Sera erst im späteren Verlauf meiner Arbeiten vorgenommen werden konnte, empfiehlt es sich, die Besprechung der angehörigen Gruppen (der sechsten und elften) alsbald anzuschliessen.

Das Serum der sechsten Gruppe agglutinirte specifisch die 4 Stämme Nr. 262, 252, 259 und 281, von denen der Vibrio 259 durch das Serum der ersten Gruppe nicht, die anderen drei nur schwach beeinflusst worden waren. Gleichzeitig wurde aber die interessante Beobachtung gemacht, dass auch mehrere Angehörige der ersten Gruppe, z. B. Nr. 250 und 300, in typischer Weise durch das sechste Gruppenserum agglutinirt wurden. (Vgl. Tabelle VI, S. 54, 55.) Aus dieser Beobachtung werden wir zwar auf eine Verwandtschaft zwischen der ersten und sechsten Gruppe geführt; aber die schon erwähnten quantitativen Differenzen (vgl. Tabelle V) scheinen doch für die unabhängige Existenz der sechsten Gruppe zu sprechen.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei dem Serum der elften Gruppe, welches durch Impfung mit Vibrio 305 gewonnen war. Dieses

Serum agglutinirte ausser dem homologen Stamm (Nr. 305) nur noch Angehörige der ersten Gruppe. (Vgl. Tabelle VIII, S. 54, 55.)

Möglicher Weise ist daher die elfte Gruppe keine für sich abgeschlossene, sondern es gehört der Vibrio Nr. 305 trotz seines etwas abweichenden Verhaltens doch in die Gruppe. Ich lasse diese Frage vorläufig offen.

Bei den übrigen Seris, deren Besprechung wir in der Reihenfolge ihrer Prüfung folgen lassen, ist eine derartige Reciprocität, wie sie oben erwähnt wurde, nicht mehr beobachtet worden. Nur zuweilen fand sich bei niedrigwerthigen Seris eine leichte, aber keineswegs typische Beeinflussung der Vertreter anderer Gruppen.

Von den durch das Serum der Gruppe II agglutinirten Stämmen haben nur die Culturen Nr. 248, 256, 273 und 382 eine scharfe Reaction gezeigt (vgl. Tabelle VIII, S. 54, 55). Bei den Stämmen Nr. 278, 337, 338 war die sichere Feststellung des Beginnes und der Vollendung der Agglutination erschwert durch das erwähnte störende Moment der Pseudoagglutination (vgl. S. 46). Da aber bei ihnen nach wenigen Stunden bleibende Klärung eintrat, während die Controle nach dieser Zeit fast oder ganz homogen wurde, dürften diese Reactionen doch als positive aufzufassen sein. Zweifelhaft dagegen bleibt die Zugehörigkeit der Stämme Nr. 368 und 478 zu dieser Gruppe, da sie auch in einer allerdings doppelt so starken Concentration normalen Serums (der Controle) eine beginnende Agglutination zeigten. Eine sichere Beurtheilung dieser Ergebnisse ist ferner erschwert durch die relativ hohe Concentration des specifischen Serums, deren Verwendung durch den niedrigen Agglutinationswerth desselben nothwendig wurde.

Es wurde daher bei dem folgenden Serum der dritten Gruppe, dessen Titer nicht höher war, als derjenige des vorhergehenden, der Versuch gemacht, bei einer höheren Verdünnung zu agglutiniren. (Vgl. Tabelle IX, S. 56, 57.)

Wie indessen aus der Tabelle IX ersichtlich ist, waren bei diesem Verfahren erst recht keine scharfen Unterschiede erkennbar. Eine sicher positive Reaction hat nur der homologe Stamm Nr. 280 gezeigt. Bei dem Befund einer schwächeren, aber deutlich vorhandenen Agglutination des Vibrio Nr. 273, eines Angehörigen der zweiten Gruppe, wurden wir durch die noch weniger deutliche Wirkung des Serums auf die Stämme 376 und 460 veranlasst, auch letztere nicht dieser Gruppe zuzurechnen.

Dagegen gehört der Vibrio Nr. 310 sehr wahrscheinlich der dritten Gruppe an.

Viel klarer liegen die Verhältnisse bei der vierten Gruppe, welche durch Agglutination mit einem hochwerthigen Serum gewonnen wurde. (Vgl. Tabelle X, S. 56, 57.)

Serum aus Kan. Nr.	Titer	Z. Prüfung verwendete Verdünnung	Vibrionen-Cultur Nr.	Leuchtvermögen	Fundort	Datum Isolirun
					Gruppe V	
55	1 : 1000	1 : 500	262	leuchtend	Neue Schöpfstelle Hamb.	19.VIII.
			252	„	Theil. zwischen Norder- u Süderelbe	1.VIII.
			259	früher leuchtend	Wittenberge, Hafen	8.VIII.
			281	leuchtend	Hamb. Spitze v. Kaltehofe, Col. 3	11.IX.
			282	früher leuchtend	Bullenhausen	11. IX.
			305	„	Neue Schöpfstelle I, Hamb.	6. X.
			473	leuchtend	Elbe b. Hamb., St. Pauli, Fischmarkt	13. IX.
			250	leuchtend	Zollenspieker b. Hamburg	1.VIII.
			300	„	Niedernstr. 91, Hamburg	2.X.
					Gruppe X	
57	1 : 300	1 : 200	305	früher leuchtend	Hamb., neue Schöpfstelle I	6.X.
			250	leuchtend	Zollenspieker b. Hamburg	1.VIII.
			262	„	Hamb., neue Schöpfstelle	19.VIII.
					Gruppe I	
36	1 : 500	1 : 200	248	früher leuchtend	Neue Schöpfstelle Hamb.	28.VII.
			256	nicht leuchtend	Mittelcanal, Elbe b. Hamb.	5.VIII.
			273	„	Ruhrort, Ruhr Nr. 12	3.IX.
			278	leuchtend	Orthkathen b. Hamb. II	11.IX.
			337	nicht leuchtend	Elbvibrio I Wernike	1894
			338	„	Elbvibrio II Werniccke	1894
			368	nicht leuchtend	Bille, Brandshoferschleusse bei Hamburg	11.IX.
			478	früher leuchtend	Baakenhafen, Hamburg	13.IX.

Tabelle VI.

Agglutination beginnt nach:	Agglutination vollend. nach:	Klärung vollend. nach:	Verhalten nach 24 h	Controle Norm.-Ser. 1 : 100	Ergebniss	Bemerkungen
Min.	5 Min.	1 Std.	geklärt	homogen	+	*)
„	30 „	2 „	„	„	+	
ofort	10 „	1 „	„	sofort agglut., nach 10 Min. trüber, n. 12—24 h flockig, schleimig, getrübt	+	
Min.	10 „	1 „	„	homogen	+	
Std.	2 Std.	12 Std.	geklärt	homogen	(+)	§)
„	2 „	6 „	fast geklärt	homogen, später flockig getrübt	(+)	
ofort	30 Min.	12 „	geklärt	sofort agglut., nach 10 Min. Trübg., n. 24 h fast homogen	(+)	
Min.	5 Min.	1 Std.	geklärt	homogen	+	
ofort	5 „	1 „	„	„	+	

Tabelle VII.

Min.	1 Std.	ca. 12 h	geklärt	homogen	+	*)
Min.	10 Min.	2 Std.	geklärt	homogen	+	
ofort	15 „	2 „	„	erst agglut., später homog.	+	

Tabelle VIII.

Min.	5 Min.	1 Std.	geklärt	homogen	+	*)
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	3 „	„	„	+	
—	sofort	4 „	„	Anfangs völlig agglut., v. d. 4.—24. h zunehmende Trübg.	+	
ofort	10 Min.	3 „	„	Anfangs agglut., von der 2.–24 h homogen	+	
„	2 „	3 „	„	Anfangs agglut., von der 2.—24. h homogen	+	
Min.	10 Min.	2 Std.	geklärt	Nach 5 Min. bis 24 Std. trübkörnig	+	
„	10 „	1 „	fast geklärt	Nach 2—24 h trübkörnig	+	

*) Dieser Vibrio wurde zur Herstellung des Serums verwendet.

§) Vgl. Anmerkung auf S. 51.

Gruppe II

Serum aus Kan. Nr.	Titer	Z. Prüfung verwendete Verdünnung	Vibrionen-Cultur Nr.	Leuchtvermögen	Fundort	Datum d. Isolirun
44	1 : 500	1 : 500	280	früher leuchtend	Spitze v. Kaltehofe, Col. 2 Hamburg	11. IX.
			310	„	Schöpfstelle, gegenüber dem Eichbaum II (Hamb.)	7. X.
			376	nicht leuchtend	Schweinestall Seefeld, Haus 465, Col. b	11. IX.
			460	leuchtend	Elbe bei Kaltehofe	26. VIII.
			273	n. leuchtd.	Ruhrort, Ruhr Nr. 12	3. IX.
					Gruppe IV	
59	1 : 2000	1 : 1000	361	nicht leuchtend	Oster Ende Groden, eben oberhalb Grodener Bake	14. IX.
			360	fr. leuchtd.	Elbe b. Otterndorf T. 3, cola	14. IX.
			362	n. leuchtd.	Elbe bei Cuxhaven	14. IX.
			363	„	Elbe, etwas oberh. d. Einm. der Oste	13. IX.
			364	„	Elbe, etwas unterh. Brunsb. i. d. Höhe d. roth. Ton. Col. b	13. IX.
			367	„	Elbe, etwas unterh. Glückstadt, schwarze Tonne I	13. IX.
			366	„	Elbe bei Brokdorf	13. IX.
					Gruppe V	
48	1 : 1000	1 : 500	334	fr. leuchtd.	Elbe, Grasbrook Hamb.	14. VIII.
			286	n. leuchtd.	Ablagerungsbassin II	23. IX.
			290	fr. leuchtd.	Unstrut	29. IX.
			292	„	Naumb., 500 Schr. v. d. Zusammenfl. v. Unstrut u. Saale	29. IX.
			293	„	Nürnberg, Pegnitz	29. IX.
			308	„	Hamb., neue Schöpfstelle I	6. X.
			314	„	Norderelbe bei Hamburg	16. X.
			315	n. leuchtd.	Ablagerungsbas. Ia. Hamb.	16. X.
			316	fr. leuchtd.	Schnellfilter Hamburg	18. X.
			332	n. leuchtd.	Hamburg, Leitung, Col. I	13. VIII.
			333	„	„ „ „ III	13. VIII.
			335	„	Neue Schöpfstelle, Hamb.	14. VIII.
			341	„	Elbvibrio Dr. Rumpel	1895
			346	„	Dovcelbe v. d. Schleusse	2. VIII.
			355	„	Mitte d. Elbstr. b. Teufelsbr.	26. VIII.
			371	„	Kuhstall Seefeld, Haus 440	11. IX.
			388	„	Elbe b. Brunsh. Einm. d. Schwinge	14. IX.
			391	„	Elbe v. Boje, Lüher Sand	14. IX.
			398	„	Elbe, Moorwerder Landgbr.	23. IX.
			402	„	Elbe, Rönne	23. IX.
			403	„	Elbe, etwas unterh. Geesth.	23. IX.
			455	„	Stammsiel Hamburg	20. VIII.

Tabelle IX.

Agglutination beginnt nach:	Agglutination vollend. nach:	Klärung vollend. nach:	Verhalten nach 24h	Controle Norm.-Ser. 1 : 100	Ergebniss	Bemerkungen
Min.	1 Std.	12 Std.	geklärt	homogen	+	*)
—	sofort	3 „	fast geklärt	sofort agglut., von der 2.—24.h fast homogen	+	
sofort	2h fast vollend.	—	fast geklärt	sofort trübkörnig, von d. 2.—24.h fast homogen	(+)	§)
Min.	12 Std.	24 Std.	geklärt	homogen	(+)	
„	2 „	24 „	„	„	(+)	

Tabelle X.

Min.	5 Min.	2 Std.	geklärt	homogen	+	*)
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	3 „	„	„	+	
„	15 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
Min.	nicht vollend.	noch nach 24 Std. trübkörnig	trübkörnig	„	(+)	§)

Tabelle XI.

Min.	5 Min.	1 Std.	geklärt	homogen	+	*)
„	5 „	1 „	„	„	+	
„	5 „	1 „	„	„	+	
„	10 „	1 „	„	„	+	
„	10 „	1 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	15 „	1 „	„	„	+	
„	15 „	1 „	„	„	+	
„	15 „	1 „	„	„	+	
„	5 „	1 „	„	„	+	
„	15 „	3 „	„	„	+	
„	5 „	1 „	„	„	+	
„	15 „	2 „	fast geklärt	„	+	
„	15 „	2 „	geklärt	„	+	
„	15 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	fast geklärt	„	+	
„	15 „	2 „	geklärt	„	+	
„	15 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	5 „	1 „	„	„	+	

*) Dieser Vibrio wurde zur Herstellung des Serums verwendet.
§) Vgl. Anmerkung auf S. 51.

Gruppe V. (Fortsetzung.

Serum aus Kan. Nr.	Titer	Z. Prüfung verwendete Verdünnung	Vibrionen-Cultur Nr.	Leuchtvermögen	Fundort	Datum d Isolirun
48	1 : 1000	1 : 500	299	n. leuchtd.	Amsterdam, Amstel	1. X. 18
			302	„	Hamb., Neue Schöpfstelle II	3. X.
			387	„	Elbe, Borstel, Höhe zw. S. Ton. O. u. H.	14. IX.
					Gruppe VI	
61	1 : 1000	1 : 500	437	n. leuchtd.	Vibrio Lickfett I	1896
					Gruppe VII	
77	1 : 500	1 : 200	396	n. leuchtd.	Elbe bei Kaltehofe	23. IX. 18
			348	„	Doveelbe oberh. d. Reitbrooker Brücke	21. VIII.
			352	„	Doveelbe Mitte Reitbr.	21. VIII.
			365	„	Elbe, etwas unterh. Brunsbüttel, Höhe d. roth. Tonne	13. IX.
					Gruppe IX	
76	1 : 1000	1 : 500	463	n. leuchtd.	Hamb., Alster zw. Lessing- u. Richardstrasse	31. VIII.
					Gruppe X	
65	1 : 200	1 : 100	266	n. leuchtd.	Hamburg, Leitung Col. I	21. VIII.
			267	„	Hamburg, Leitung Col. II	21. VIII.
			268	„	Hamburg, Leitung Col. III	21. VIII.
			404	„	Elbe b. Tesperhudé.	23. IX. 9
			472	„	Hamb. Grasbrookhafen.	13. IX. 9
65	1 : 200	1 : 100	258	n. leuchtd.	Halle, Saale, Schifferbrücke	8. VIII.
			330	„	Hamb., Marienstrasse 3	Dec. 9
			475	„	Hamburg, Indiahafen	13. IX. 9
					Choleragruppe	
32	1 : 2000	1 : 500	Chol. Bombay	n. leuchtd.	Von Prof. Schottelius im Herbst 1901 übersandt	
			272	„	Ruhrort, Ruhr 5	3. IX.
			318	„	Hamburg, Moorwerder	20. X.
			319	„	Stettin, Oder m	22. X.
			321	„	Stettin, Oder x	22. X.
			322	„	Stettin, Oder y 2	22. X.
			323	„	Stettin, Oder y 3	22. X.
			331	„	Hamburg, Schnellfilter.	30. X.

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

Agglutination beginnt nach:	Agglutination vollend. nach:	Klärung vollend. nach:	Verhalten nach 24h	Controle Norm.-Ser. 1:100	Ergebniss	Bemerkungen
Min.	30 Min.	3 Std.	geklärt	homogen	(+)	§)
„	30 „	3 „	„	„	(+)	
„	20 „	3 „	„	„	(+)	

Tabelle XII.

Min.	10 Min.	3 Std.	geklärt	homogen	+	*)

Tabelle XIII.

Min.	1 Std.	2 Std. fastgekl.	fast geklärt	homogen	+	*)
„	5 Min.	2 Std.	geklärt	„	+	
„	5 „	2 Std. fastgekl.	„	„	+	
„	5 „	2 Std.	„	„	+	

Tabelle XIV.

Min.	2 Min.	1 Std.	geklärt	homogen	+	*)

Tabelle XV.

Min.	10 Min.	2 Std.	geklärt	homogen	+	*)
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	10 „	2 „	„	„	+	
„	15 „	2 „	„	trübkörnig	+	
„	10 „	2 „	„	homogen	+	
Std.	12 Std.	24 Std.	geklärt	homogen	(+)	§)
Min.	2 Std.	—	nicht geklärt	„	(+)	
Std.	ca. 12h	nach 24h fastgekl.	fast geklärt	„	(+)	

Tabelle XVI.

	1 Min.	1 Std.	geklärt	homogen	+	
Min.	5 „	2 „	„	„	+	
	1 „	30 Min.	„	„	+	
„	2 „	30 „	„	„	+	
„	4 „	1 Std.	„	„	+	
„	2 „	1 „	„	„	+	
„	2 „	1 „	„	„	+	
„	2 „	1 „	„	„	+	

*) Dieser Vibrio wurde zur Herstellung des Serums verwendet.

§) Vgl. Anmerkung auf S. 51.

Es gehören hierher sechs Stämme, die alle am 14. September 1895 bei einer Elbfahrt gewonnen wurden. Da bei dem Vibrio Nr. 360 nur am Tag seiner Isolirung Phosphorescenz beobachtet sein soll, die übrigen fünf aber nicht geleuchtet haben, möchten wir in diesem Falle die Frage offen lassen, ob hier vielleicht bei dem einen Stamm ein Irrthum in der Beobachtung vorgekommen ist, oder ob die anderen fünf Stämme auf unseren Nährböden nicht zu leuchten vermögen. Möglicherweise gehört dieser Gruppe auch der Vibrio Nr. 366 an, obwohl seine Agglutinirbarkeit hinter derjenigen der anderen wesentlich zurücksteht. Diese Frage mag vorläufig unentschieden bleiben.

Zur fünften Gruppe gehören 19 Stämme; nur bei sieben unter ihnen ist Phosporescenz beobachtet worden. Es ist sehr wahrscheinlich, dass auch die am Schluss der Tabelle aufgeführten Stämme Nr. 299, 302 und 387 hierher zu rechnen sind. (Vgl. Tabelle XI, S. 56—59.)

Die siebente Gruppe umfasst allein den historisch interessanten Vibrio Lickfett I. Kein anderer Vibrio wird durch dies Serum agglutinirt. Ich will aber nicht unerwähnt lassen, dass die der zweiten Gruppe angehörigen Stämme Nr. 248 und 273 durch dieses Serum eine schwache Beeinflussung erfuhren, wenn es auch zu keiner vollständigen Agglutination kam. (Vgl. Tabelle XII, S. 58, 59.)

Durch das Serum der achten Gruppe wurden vier Stämme specifisch beeinflusst, und zwar — vielleicht auf Grund gewisser Virulenzunterschiede — der homologe weniger intensiv, als die anderen drei. (Vgl. Tabelle XIII, S. 58, 59.)

Wie die Gruppe VII wird auch die neunte Gruppe nur durch den homologen Stamm gebildet. Nur ein anderer Vibrio zeigte eine gewisse Beeinflussung, die aber noch nicht als positive Agglutination bezeichnet werden konnte. (Vgl. Tabelle XIV, S. 58, 59.)

Das Serum der zehnten Gruppe ist das schwächste unter allen von mir benutzten Seris und musste in einer Verdünnung von 1 : 100 verwendet werden. Trotz der Unsicherheit, welche dieser Bestimmungsreihe nothwendig anhaftet, dürften wohl die Stämme Nr. 266, 267, 268, 404 und 472 ein und derselben Gruppe zuzurechnen sein. (Vgl. Tabelle XV, S. 58, 59.) Wie schwierig indessen die Beurtheilung in solchen Fällen werden kann, geht aus den Agglutinationsresultaten des gleichen Serums bei den Vibrionen Nr. 258, 330 und 475 hervor. Es muss wohl unentschieden gelassen werden, ob diese drei Stämme der Gruppe angehören oder nicht.

Bei der verwendeten relativ starken Concentration zeigte sich eine schwächere, aber noch deutliche Einwirkung des Serums auf einzelne Angehörige der II., III. und VI. Gruppe.

Aus den angeführten Versuchen hat sich ergeben, dass es mit Hülfe der Agglutinationsmethode, zumal bei Verwendung möglichst hochwerthiger Sera, gelingt, unter den choleraähnlichen Vibrionen gewisse Gruppen abzutrennen. Diese Gruppen sind fast durchweg von einander ziemlich scharf trennbar und zeigen nur ganz vereinzelte unsichere Fälle.

Die oben besprochenen Versuche haben eine vorwiegend theoretische Bedeutung. Leitender Gesichtspunkt bei allen meinen Untersuchungen war aber die Feststellung, ob eine befriedigende und reinliche Scheidung zwischen dem Choleravibrio und den choleraähnlichen möglich wäre. Diese Aufgabe ist bei meinen Untersuchungen — bis auf zwei noch zu besprechende Fälle — in völlig zufriedenstellender Weise durchführbar gewesen.

Bei den nach dieser Richtung ausgeführten Versuchen diente zu Vergleichzwecken eine aus Bombay stammende, zur Zeit nur sehr mässig virulente Choleracultur, die Hr. Professor Schottelius im Herbst 1901 dem hiesigen Institut freundlichst überlassen hat. Dieser Cholerastamm („Cholera Bombay") wird durch keines der oben beschriebenen Vibrionensera in den von mir angewandten Verdünnungen beeinflusst.

Auf Grund der früher im hiesigen Institut ausgeführten Versuche mussten wir nun annehmen, dass unter den aus Wasser isolirten Vibrionen sich einzelne echte Cholerastämme befänden. (Vgl. Tabelle II, S. 8—10.) Es wurden daher vor Anstellung der schon erwähnten Versuche alle in der Sammlung befindlichen Wasservibrionen geprüft auf ihre Agglutinirbarkeit durch Choleraserum. Verwendet wurde dabei die 500fache Verdünnung eines durch Immunisirung von Kaninchen mit Cholera Bombay erhaltenen Serums vom Titer 1 : 2000. Bei dieser Prüfung reagirten sieben Stämme wie echte Cholera. (Vgl. Tabelle XVI, S. 58, 59.)

Nachdem die Choleranatur dieser sieben Vibrionen schon durch die in der Tabelle XVI aufgeführten Ergebnisse wahrscheinlich gemacht war, wurde später die Wirkung eines jeden von mir gewonnenen Vibrionenserums auf dieselben geprüft.

Die Stämme Nr. 318, 319, 321, 322, 323, 331 zeigten hierbei ein ziemlich klares Verhalten. Allerdings zeigten manche eine leichte Beeinflussung durch einige Wasservibrionensera. Das war aber nur da der Fall, wo wir durch die Geringwerthigkeit der Sera zur Verwendung relativ hoher Concentrationen gezwungen waren; auch blieb diese Reaction stets schwach und konnte nie mit einer positiven Agglutination verwechselt werden. Dagegen wurde der Vibrio Nr. 272 noch in der 500fachen Verdünnung des hochwerthigen Leuchtserums der I. Gruppe in typischer Weise, durch die 1000fache Verdünnung desselben

Tabelle XVII.

Serum	Vibrio Nr.	Agglutination beginnt nach:	Agglutination vollendet nach:	Klärung vollend. nach:	Verhalten nach 24Std.	Controle [1]	Ergebniss
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200 (Controle)	Chol. Bomb.	sofort 10 Min. —	1 Min. 30 „ —	1 Std. vor 12 h —	geklärt „ homogen	homogen	+
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200 (Controle)	272	12 Min. 20 „ ca. 12 h	1 Std. 2 „ —	2 Std. vor 12 h —	geklärt „ feinkörnig, trübe	nach 12 h trüb-körnig	+
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200 (Controle)	318	sofort 1 Min. ca. 12 h	sofort 15 Min. —	2 Std. 2 „ —	geklärt „ feinkörnig, trübe	nach 12 h trüb-körnig	+
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200 (Controle)	319	sofort Pseudo-agglut.	15 Min. 30 „ nicht vollendet, nach 10 Min. fast homog.	2 Std. 2 „ —	geklärt „ homogen	von der 1. Std. ab homogen	+
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200 (Controle)	321	2 Min. 10 „ —	5 Min. 1 Std. —	2 Std. vor 4 h —	geklärt „ homogen	homogen	+
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200 (Controle)	322	2 Min. 5 „ —	5 Min. 2 Std. —	2 Std. vor 12 h —	geklärt „ homogen	homogen	+
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200 (Controle)	323	1 Min. 10 „ —	15 Min. 30 „ —	2 Std. vor 4 h —	geklärt „ homogen	homogen	+
Chol.-S. 1 : 1000 „ 1 : 4000 Norm.-S. 1 : 200	331	sofort 10 Min. —	1 Min. 30 „ —	1 Std. 2 „ —	geklärt „ homogen	homogen	+

[1] Der Uebersichtlichkeit halber sind die Ergebnisse der Controlprüfung in Normalserum 1 : 200 in der vorletzten Spalte zusammengefasst.

verspätet, aber noch deutlich agglutinirt. Es deckt sich diese Thatsache mit der 1896 gemachten Beobachtung, dass dieser Vibrio im Pfeiffer'schen Versuch ausser auf Choleraserum auch auf das Serum eines leuchtenden Vibrio positiv reagirte, während er in den gleichzeitig verwendeten Controlthieren keine Beeinflussung erfuhr.

Um über die Angehörigkeit dieser Stämme zu einem endgültigen Ergebniss zu gelangen, wurde die Verwendung eines hochwerthigen Choleraserums in entsprechend stärkerer Verdünnung nöthig. Ich hatte zunächst Schwierigkeiten, ein solches Serum zu bekommen. Schliesslich gelang es, nach langer Vorbehandlung ein Kaninchenserum zu erhalten, das in 4000facher Verdünnung unsere Cholera-Bombay nach 10 Minuten typisch agglutinirte.[1] Die Befunde mit unserem Serum, bei denen ein 200fach verdünntes Normalkaninchenserum als Controle diente, sind in vorstehender Tabelle XVII aufgeführt.

Das Resultat unserer Versuche ist insofern ein zufriedenstellendes gewesen, als von allen im Wasser gefundenen Vibrionen nur zwei übrig geblieben sind, bei denen die Differentialdiagnose gegen Cholera noch nicht mit Sicherheit zu stellen war. Bei den schon vorher choleraverdächtigen Stämmen Nr. 318 bis 331 ist nach den in der Tabelle XVII zusammengestellten Befunden die Choleranatur erwiesen, bei dem Vibrio 272 ist sie noch nicht gesichert aber sehr wahrscheinlich.

Weniger befriedigend ist der Verlauf bei einem weiteren Vibrio, der selbst durch 1000fache Verdünnung des Normalserums, sowie durch physiologische Kochsalzlösung agglutinirt wurde. Auf eine weitere Fortführung dieser Untersuchungen musste ich leider zur Zeit verzichten. Ich behalte mir aber für später vor, der hochinteressanten Frage näher zu treten, ob auch diese beiden noch zweifelhaften Stämme zur Cholera zuzurechnen seien.

Trotz aller weiter oben angeführten sicheren Befunde von Choleravibrionen in öffentlichen Gewässern wird auch jetzt noch von einzelnen Autoren geleugnet, dass der Nachweis von Choleraerregern im Wasser gelungen sei. Ich weise deshalb besonders darauf hin, dass während der Choleraepidemie 1893 im Wasser Vibrionen gefunden sind, die als sichere Choleravibrionen aufzufassen sind, da sie im Pfeiffer'schen Versuch, wie bei der Agglutination positiv auf Choleraserum reagirten. Solche Vibrionen sind

[1] Hr. Prof. R. Pfeiffer und Hr. Prof. Kolle hatten die Güte, uns Proben ihrer hochwerthigen Sera zuzuschicken. Durch diese Sera wurde unser Stamm Cholera Bombay nur bis 1:1000 innerhalb von 30 bezw. 10 Minuten agglutinirt. Wenn dieselben daher auch nicht ganz so hochwerthig agglutinirten, so haben sich doch bei Anwendung derselben Resultate ergeben, die mit den durch unser Serum erhaltenen vollkommen übereinstimmen.

nicht nur in der Elbe gefunden, sondern auch aus Proben isolirt worden, die an verschiedenen Punkten der städtischen Leitung (der Wasserkunst, einem Zapfhahn des Hygienischen Institutes, dem Wasserkasten eines Hauses in der inneren Stadt) entnommen waren. Es muss daher jene als Angriffspunkt gegen die Koch'sche Theorie noch immer wieder aufgestellte Behauptung, es sei nicht gelungen, bei Choleraepidemieen im Leitungswasser Choleravibrionen aufzufinden, auf's Energischste zurückgewiesen werden.

Fassen wir das Ergebniss der vorstehenden Arbeit zusammen, so haben wir für die Entscheidung der bakteriologischen Diagnose der Choleravibrionen folgende Anhaltspunkte gewonnen:

Es giebt im Wasser eine grosse Zahl von Vibrionen, die nach dem heutigen Stande unserer Kenntnisse vom Choleravibrio morphologisch und culturell nicht unterscheidbar sind. Bei diesen können wir aber in völlig befriedigender Weise die Diagnose sichern unter Anwendung der serodiagnostischen Methoden. Praktisch am wichtigsten scheint mir unter diesen die Agglutination gegen Choleraserum zu sein.

Der Titer dieses Serums sollte am besten mindestens 1 : 1000 betragen. Bei Ausführung solcher differentialdiagnostischer Untersuchungen darf niemals die Anstellung einer Controle unterlassen werden. Zweckmässig wählt man dazu die 10 Mal so starke Concentration eines Normalserums der gleichen Thierart, die zur Gewinnung des Immunserums verwendet war. Zeigt die zu prüfende Cultur auch im Normalserum Körnchenbildung, so ist auch eine Emulsion in 0·85 procentiger Kochsalzlösung anzufertigen.

Ferner ist es nöthig, gleichzeitig mit diesem Versuch die Agglutination eines mässig virulenten Stammes echter Choleravibrionen in den gleichen Serumverdünnungen zu beobachten. Vergleichbare Resultate können nur erhalten werden bei Verwendung gleicher Serummengen und möglichst genau gleicher Bakterienmengen aus gleichaltrigen jungen Culturen bei constanter Temperatur und unter sorgfältiger Beobachtung der zeitlichen Verhältnisse der Agglutination.

Bei den mitgetheilten Versuchen hat sich gezeigt, dass es bei Anwendung dieser Methodik abgesehen von seltenen Ausnahmen keine Schwierigkeiten macht, die fragliche Diagnose zu sichern.

Bei solchen Vibrionenculturen, von denen homogene Aufschwemmungen nicht herzustellen sind, liesse sich eventuell die Agglutination durch den Pfeiffer'schen Versuch ersetzen, vorausgesetzt, dass die betreffenden Vibrionen eine genügende Virulenz aufweisen.

Zum Schluss möchte ich Hrn. Prof. Dr. Dunbar meinen herzlichsten Dank sagen für die Anregung zu dieser Arbeit und für die weitgehende Unterstützung bei derselben, sowie für die gütige Ueberlassung der Sammlung und der Hülfsmittel des Institutes.

Mit grosser Dankbarkeit gedenke ich der überaus freundlichen Belehrung und Hülfe, die mir Hr. Dr. Weichardt in der Theorie und Praxis der Agglutination gewährt, und der vielen werthvollen Rathschläge, die mir Hr. Dr. Kister ertheilt hat.

Litteratur-Verzeichniss.

1. Abbott, *Journ. exp. med.* 1896. Vol. I. p. 604.

1a. Abbott u. Bergey, *Ebenda.* 1897. Vol. II. p. 535.

2. Achard et Bensaude, *Le phénomène de l'agglutination des microbes etc.* Paris 1897. p. 259.

3. Altobelli und Memmo, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1902. Abth. I. Bd. XXXI. S. 221.

4. Arloing, Distribution dans les tissus de la matière agglutinante. *Soc. nat. de méd.* Lyons I. 15. II. 1897. Citirt nach Trumpp, a. a. O.

5. Arloing et Courmont, *Compt. rend. de l'acad. des sciences.* 1898. T. CXXVII. p. 312.

6. Bail, *Archiv für Hygiene.* 1902. Bd. XLII. S. 307.

7. Beco, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Abth. I. Bd. XXVI. S. 136.

8. Beyerinck, *Ebenda.* 1890. Bd. VII. S. 338. — 1890. Bd. VIII. S. 616.

9. Bezançon et Griffon, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1900. p. 449.

10. Biernacki, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892. S. 957.

11. Blachstein, *Münchener med. Wochenschrift.* 1896. S. 1067.

12. Bleisch, *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XIV. S. 103.

13. Bonhoff, *Archiv für Hygiene.* 1893. Bd. XIX. S. 248.

14. Derselbe, *Ebenda.* 1896. Bd. XXVI. S. 162.

15. Bordet, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1895. p. 462.

16. Derselbe, *Ebenda.* 1896. p. 193.

17. Derselbe, *Ebenda.* 1899. p. 273.

18. Bossaert, *Ebenda.* 1898. p. 857.

19. Brieger, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1887. S. 303.

20. Derselbe, *Ebenda.* 1902. Nr. 27.

21. Bujwid, *Diese Zeitschrift.* 1887. Bd. II. S. 52.

22. Derselbe, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIII. S. 121.

23. Cadeddu, *Ann. d'Igiene sperimentale.* 1895. Vol. V. Fasc. 3.

24. Castellani, *Diese Zeitschrift.* 1901. Bd. XXXVII. S. 381.

25. Derselbe, *Ebenda.* 1902. Bd. XL. S. 1.

26. Charrin et Roger, *Comptes rendus soc. biol.* 1889. p. 667.

26a. „Die Cholera in Deutschland". *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1896. Bd. X, S. 256; 1895, Bd. XI, S. 31, 102, 121 ff.; 1896, Bd. XII. S. 40, 121, 256.

27. Courmont, *Semaine Méd.* 1897. p. 69.

28. Derselbe, *Comptes rendus soc. biol.* 1897. p. 229.

29. Cunningham, *Scientif. Memoirs, Medical officers, Army. of India.* 1885. Part. I.

30. Derselbe, *Ebenda.* 1890. Part. V. — 1891. Part. VI.

31. Defalle, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1902. p. 595.

32. Deutsch, *Ebenda.* 1899. p. 689.

33. Dineur, *Bull. de l'acad. royale de méd. de Belgique.* 1898. p. 653.

34. Dunbar, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893. S. 799.

35. Derselbe, *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1894. Bd. IX. S. 379.

36. Derselbe, *Ebenda.* Bd. X. Anl. 9. S. 150 ff.*. 159*.

37. Dunbar, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1895. S. 137.
38. Derselbe, *Diese Zeitschrift.* 1896. Bd. XXI. S. 295.
39. Derselbe, in Lubarsch-Ostertag's *Ergebnissen der allgemeinen Pathologie u. s. w.* Abth. I: Aetiologie. S. 839.
40. v. Dungern, *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. Nr. 13.
41. Dunham, *Diese Zeitschrift.* 1887. Bd. II. S. 337.
42. Eisenberg und Volk, *Ebenda.* 1902. Bd. XL. S. 155.
43. v. Emden, *Ebenda.* 1899. Bd. XXX. S. 19.
44. Emmerich und Löw, *Ebenda.* 1899. Bd. XXXI. S. 1.
45. Emmerich, Löw und Korschun, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1902. Abth. I. Bd. XXXI. S. 1.
46. Emmerich, *Ebenda.* 1902. Abth. I. Bd. XXXI. S. 585.
47. Engels, *Ebenda.* 1897. Abth. I. Bd. XXI. S. 81.
48. Fodor und Rigler, *Ebenda.* 1898. Abth. I. Bd. XXIII. S. 930.
49. Fokker, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893. S. 162.
50. Forster, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1887. Bd. II. S. 337.
51. Fraenkel, C., *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892. S. 925.
52. Fraenkel, E., und Otto, *Münchener med. Wochenschrift.* 1897. S. 1065.
53. Friedberger, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901. Abth. I. Bd. XXX. S. 336.
54. Derselbe, *Ebenda.* 1902. Abth. I. Bd. XXXI. S. 109.
55. Friedrich, A., *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1893. Bd. VIII. S. 465.
56. Friedrich, P., *Ebenda.* 1893. Bd. VIII. S. 587.
57. Gengou, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899. p. 642.
58. Gruber, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1887. Nr. 5/6.
59. Gruber und Durham, *Münchener med. Wochenschrift.* 1896. S. 206.
60. Gruber, *Ebenda.* 1896. S. 285.
61. Derselbe, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1896. S. 206.
62. Derselbe, *Wiesbadener Congress für innere Medicin.* Ref. *Münchener med. Wochenschrift.* 1896. S. 381.
63. Derselbe, *Ebenda.* 1899. S. 1329.
64. Grünbaum, *Ebenda.* 1897. S. 320.
65. Guarch, *Tageblatt der 61. Versammlung Deutscher Naturforscher u. Aerzte.* Köln 1888. S. 278.
66. Günther, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892. S. 1124.
67. Hädke, *Ebenda.* 1897. S. 21.
68. Hankin, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1896. p. 511.
69. Harrison, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901. Abth. I. Bd. XXX. S. 208.
70. Heider, *Ebenda.* 1893. Abth. I. Bd. XIV. S. 341.
71. Heim, *Ebenda.* 1892. Bd. XII. S. 353.
72. van't Hoff, *Ebenda.* 1898. Abth. I. Bd. XXI. S. 797.
73. Hüppe, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1893. S. 138.
74. Issaeff, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1893. p. 260.
75. Derselbe, *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVI. S. 287.
76. Issaeff und Ivánoff, *Ebenda.* 1894. Bd. XVII. S. 117.
77. Jatta, *Ebenda.* 1900. Bd. XXXIII. S. 185.
78. Joos, *Ebenda.* 1901. Bd. XXXVI. S. 422.
79. Derselbe, *Ebenda.* 1902. Bd. XL. S. 203.

80. Jürgens, *Archiv für Hygiene.* 1902. Bd. XLII. S. 265.
81. Karlinski, *Centralblatt für Bakteriologie* 1890. Bd. VIII. S. 40.
82. Kiessling, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1893. S. 430.
83. Koch, R., *Ebenda.* 1887. Bd. III. S. 155 ff.
84. Derselbe, *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XIV. S. 319.
85. Derselbe, *Ebenda.* 1893. Bd. XIV. S. 393.
86. Köhler und Scheffler, *Münchener med. Wochenschrift.* 1900. S. 757.
87. Köhler, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901. Abth. I. Bd. XXIX. S. 683.
88. Kohlbrugge, *Ebenda.* 1900. Abth. I. Bd. XXVIII. S. 721 ff.
89. Kraus, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1897. S. 737.
90. Kraus und v. Pirquet, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1902. Abth. I Bd. XXXII. S. 62.
91. Kutscher, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1893. S. 1301.
92. Derselbe, *Diese Zeitschrift.* 1895. Bd. XIX. S. 461.
93. Landsteiner, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Abth. I. Bd. XXV. S. 546.
94. Landsteiner und Sturli, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1902. S. 38.
95. Laveran et Mesuil, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1901. p. 673.
96. Lehmann und Tollhausen, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1889. Bd. V. S. 785.
97. Lindemann, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1900. p. 49.
98. Löffler, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIII. S. 384.
99. Löw, *Ebenda.* 1901. Abth. I. Bd. XXIX. S. 681.
100. Lubarsch, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1892 S. 978.
101. Ludwig, F., *Centralblatt für Bakteriologie.* 1887. Bd. II. S. 372.
102. Macfadyen, *Ebenda.* 1901. Abth. I. Bd. XXX. S. 368.
103. Malkoff, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1900. S. 229.
104. Malvoz, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897. p. 582.
105. Derselbe, *Ebenda.* 1899. p. 630.
106. Derselbe, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1901. Abth. I. Bd. XXIX. S. 688.
107. Mendoza, *Ebenda.* 1893. Bd. XIV. S. 693.
108. Mertens, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901. S. 381.
109. Metchnikoff, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1891. p. 473.
110. Derselbe, *Ebenda.* 1895. p. 433.
111. Derselbe, *Ebenda.* 1900. p. 369.
112. Müller, Paul Th., *Centralbl. f. Bakteriologie.* 1900. Abth. I. Bd. XXVIII. S. 584.
113. Derselbe, *Ebenda.* 1901. Abth. I. Bd. XXX. S. 65.
114. Neisser, M., *Archiv für Hygiene.* 1893. Bd. XIX. S. 194.
115. Neufeld, *Diese Zeitschrift.* 1902. Bd. XL. S. 54.
116. Neumann und Orth, *Ebenda.* 1896. Bd. XXI. S. 363.
117. Nicati et Rietsch, *Revue de Méd.* 1885. p. 365.
118. Nicolas, *Lyon méd.* 1896. T. LXXXIII. p. 127.
119. Nicolle, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1896. p. 86.
120. Derselbe, *Ebenda.* 1898. p. 161.
121. Nolf, *Ebenda.* 1900. p. 297.
122. Paltauf, *Wiener klin. Wochenschrift.* 1897. S. 431.
123. Pasquale, *Giorn. R. Esercito.* 1891.
124. Pestana u. Bettencourt, *Centralbl. f. Bakteriol.* 1894. Bd. XVI. S. 401.

125. Petri, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1890. Bd. VI. S. 1.
126. Pfaundler, *Münchener med. Wochenschrift.* 1899. S. 472.
127. Pfeiffer, R., *Diese Zeitschrift.* 1893. Bd. XIV. S. 46.
128. Derselbe, *Ebenda.* 1894. Bd. XVI. S. 268.
129. Pfeiffer, R., und Issaeff, *Ebenda.* 1894. Bd. XVII. S. 355.
130. Pfeiffer, R., *Ebenda.* 1894. Bd. XVIII. S. 1.
131. Derselbe, *Ebenda.* 1895. Bd. XIX. S. 75.
132. Derselbe, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1896. S. 118.
133. Pfeiffer, R., und Kolle, *Ebenda.* 1896. S. 185.
134. Pfeiffer, R., und Vagedes, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1896. Abth. I. Bd. XIX. S. 385.
135. Pfeiffer, R., und Kolle, *Ebenda.* 1896. Abth. I. Bd. XX. S. 129.
136. Pfeiffer, R., und Marx, *Diese Zeitschrift.* 1898. Bd. XXVII. S. 272.
137. Pfeiffer, R., und Friedberger, *Berliner klin. Wochenschr.* 1902. S. 579.
138. Pflüger, E., *Archiv für die ges. Physiol.* 1883. Bd. XXX. S. 275. — 1883. Bd. XXXI. S. 222.
139. Pfuhl, *Diese Zeitschrift.* 1894. Bd. XVII. S. 234.
140. Pöhl, *Lancet.* 1886. p. 830. (Referat.)
141. Rabinowitsch und Kempner, *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXX. S. 251.
142. Radziewsky, *Ebenda.* 1900. Bd. XXXIV. S. 369.
143. Ransom und Kitashima, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1898. S. 295.
144. Rath, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Abth. I. Bd. XXV. S. 549.
145. Reincke, *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt.* 1895. Bd. XI. S. 39.
146. Rodet, *Comptes rendus soc. biol.* 1899. p. 348.
147. Roger, *Revue gén. des sciences.* 1896. p. 775.
148. Rothberger, *Diese Zeitschrift.* 1900. Bd. XXXIV. S. 79.
149. Rumpel, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1895. S. 73.
150. Russel, *Diese Zeitschrift.* 1892. Bd. XI. S. 198.
151. Salkowski, E., Virchow's *Archiv.* 1887. Bd. XC. S. 366.
152. Sanarelli, J., *Annales de l'Institut Pasteur.* 1893. p. 693.
153. Schottelius, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1885. S. 213.
154. Schütze, *Ebenda.* 1902. Nr. 27.
155. Silvestrini, *Settiman. medic.* 2. April 1898.
156. Spronck, *Weekblad. Nederl. Tijdschr. f. Geneesk.* 1893. Bd. II. p. 20.
157. Stern, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1897. S. 225.
158. Trumpp, *Archiv für Hygiene.* 1898. Bd. XXXIII. S. 70.
159. Valagussa, *Annal. d'Igiene speriment.* 1900. Vol. X. Fasc. I.
160. Washbourne, *Journal pathology and bacteriology.* 1894.
161. Weibel, *Centralblatt für Bakteriologie.* 1893. Bd. XIII. S. 117.
162. Weleminsky, *Prager med. Wochenschrift.* 1895. S. 263.
163. Wernicke, *Archiv für Hygiene.* 1894. Bd. XXI. S. 166.
164. Widal, *Semaine méd.* 1896. S. 259.
165. Widal et Sicard, *Annales de l'Institut Pasteur.* 1897. p. 353.
166. Winterberg, *Diese Zeitschrift.* 1899. Bd. XXXII. S. 375.
167. Wolf, S., *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Abth. I. Bd. XXV. S. 311.
168. Zabolotny. (Russisch.) Referat in Baumgarten's *Jahresbericht.* 1897. S. 433.
169. Ziemke, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. S. 437.

Thesen.

1. Die Uebertragung der Diphtherie geschieht in der Regel von Mensch zu Mensch. Bei der Prophylaxe dieser Krankheit ist daher das Hauptgewicht auf die Isolirung der Bacillenträger zu legen.

2. Die Sicherung der Choleradiagnose gelingt nur unter Anwendung der sero-diagnostischen Verfahren.

3. Bei der als Oxydationsverfahren bezeichneten Methode der biologischen Abwasserreinigung findet zuerst eine Absorption der gelösten organischen Substanzen durch das Material des Oxydationskörpers statt. Die absorbirten Stoffe werden alsdann unter der Einwirkung von Bakterien oxydirt und verlieren damit ihre Fäulnissfähigkeit.

Lebenslauf.

Ich, Otto Carl Willy Prausnitz, bin geboren zu Hamburg am 11. October 1876 als Sohn des Arztes Dr. Otto Prausnitz und gehöre der evangelisch-lutherischen Religion an. Am Realgymnasium des Johanneums zu Hamburg bestand ich Michaelis 1894 die Reifeprüfung, am dortigen Wilhelm-Gymnasium Ostern 1895 die humanistische Nachprüfung. Alsdann studirte ich zunächst auf der Technischen Hochschule zu Darmstadt zwei Semester lang Mathematik und Physik. Ostern 1896 wandte ich mich dem Studium der Medicin zu, welches ich an den Universitäten Leipzig, Kiel und Breslau betrieben habe. Ostern 1898 absolvirte ich in Leipzig das Tentamen physicum, im Winter 1900/1901 in Breslau die ärztliche Staatsprüfung. Darauf war ich ein Jahr lang Assistenzarzt am Freimaurer-Krankenhaus in Hamburg. Seit April 1902 habe ich am hiesigen staatlichen Hygienischen Institut als Praktikant gearbeitet und bin im December 1902 dort als Assistent angestellt worden.

Während meiner Studienzeit habe ich die Vorlesungen, Kliniken und Kurse folgender Herren Professoren und Docenten besucht:

Ambronn, Bier, Bonhoeffer, Born †, Cohn, Czerny, Dieffenbach, Dingeldey, Drude, Fick, Filehne, A. Fischer, O. Fischer, Flechsig, Flemming, Flügge, von Frey, Gundelfinger, Groenouw, Hasse, Heine, Held, Heller, Henke, Henneberg, Hensen, Hering, His, Hochhaus, Hölscher, Hoppe-Seyler, Kast †, Kionka, Kittler, Klein, Klemm, Kolaczek, Krauss, Krienes, Kühnau, Kümmel, Küstner, Leuckart †, Mann, von Miculicz-Radecki, Neisser, Nicolai, Ostwald, Partsch, Petersen, Pfeffer, Ponfick, Sachs, Schering, Schneidemühl, Siegfried, Spalteholz, Graf von Spee, Stäckel, Stahr, von Starck, Stern, Tietze, Uhthoff, Völckers, Wernicke, Wiedemann †, Wislicenus †.

Allen diesen meinen verehrten Lehrern spreche ich meinen herzlichen Dank aus.